

**STUDI *IN SILICO* AKTIVITAS ANTIOSTEOPOROSIS EKSTRAK
ETIL ASETAT *Chrysophyllum cainito* L. TERHADAP PROTEIN
1A52 DAN 3OLS**

SKRIPSI

**Oleh :
HILWA FITRI
NIM. 17930019**



**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2021**

**STUDI *IN SILICO* AKTIVITAS ANTIOSTEOPOROSIS
EKSTRAK ETIL ASETAT *Chrysophyllum cainito* L. TERHADAP
PROTEIN 1A52 DAN 3OLS**

SKRIPSI

Oleh :

**HILWA FITRI
NIM. 17930019**

Diajukan Kepada:

**Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan
Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan dalam
Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi (S.Farm)**

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2021**

**STUDI *IN SILICO* AKTIVITAS ANTIOSTEOPOROSIS
EKSTRAK ETIL ASETAT *Chrysophyllum cainito* L. TERHADAP
PROTEIN 1A52 DAN 3OLS**

SKRIPSI

Oleh:
HILWA FITRI
NIM. 17930019

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji:

Tanggal: 18 Juni 2021

Pembimbing I



Dr. apt. Burhan Ma'arif, M. Farm.
NIP. 19900221 201801 1 001


Pembimbing II



Fidiah Rizkiah Inayatillah, SST., M. Keb.
NIP. 19851209 200912 2 004

**Mengetahui,
Ketua Program Studi Farmasi**




apt. Abdul Hakim, M.P.I., M. Farm
NIP. 19761214 200912 1 002





**STUDI *IN SILICO* AKTIVITAS ANTIOSTEOPOROSIS
EKSTRAK ETIL ASETAT *Chrysophyllum cainito* L. TERHADAP
PROTEIN 1A52 DAN 3OLS**

SKRIPSI

Oleh:
HILWA FITRI
NIM. 17930019

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi dan
Dinyatakan Diterima sebagai Salah Satu Persyaratan untuk
Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi (S. Farm)

Tanggal: 18 Juni 2021

Ketua Penguji	: <u>Meilina Ratna Dianti, S.Kep., NS., M.Kep.</u>	 (.....)
	NIP. 19820523 200912 2 001	
Anggota Penguji	: <u>Dr. apt. Burhan Ma'arif Z.A, M. Farm.</u>	 (.....)
	NIP. 19900221 201801 1 001	
	: <u>Fidia Rizkiah Inayatillah, SST., M.Keb.</u>	 (.....)
	NIP. 19851209 200912 2 004	
	: <u>apt. Hajar Sugihantoro, M.P.H</u>	 (.....)
	NIP. 19851216 20160801 1 086	

Mengesahkan,
Ketua Program Studi Farmasi



apt. Abdul Hakim, M.P.I., M. Farm
NIP. 19761214 200912 1 002

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Hilwa Fitri
NIM : 17930019
Program studi : Farmasi
Fakultas : Kedokteran Dan Ilmu Kesehatan
Judul Penelitian : Studi *In Silico* Aktivitas Antiosteoporosis Ekstrak Etil Asetat *Chrysophyllum cainito* L. Terhadap Protein 1A52 dan 3OLS

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilan data, tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 10 Juni 2021

Yang membuat pernyataan,


Hilwa Fitri
NIM. 17930019

MOTTO

“Be the best version of you”

(Jadilah versi terbaik dari dirimu)

“Bersemangatlal atas hal-hal yang bermanfaat bagimu. Minta tolonglah pada Allah, jangan engkau lemah” (HR. Muslim).

HALAMAN PERSEMBAHAN

Bismillahirrahmanirrahim

Segala puji bagi Allah SWT yang telah banyak sekali melimpahkan rahmat dan karunia-Nya kepada penulis. Shalawat beserta salam senantiasa tercurahkan kepada junjungan kita, nabi Muhammad SAW. Diiringi rasa haru dan penuh syukur, penulis persembahkan karya tulis ini kepada pihak-pihak yang telah banyak berkontribusi untuk senantiasa mendukung dan membantu penulis hingga saat ini.

Kepada kedua orangtuaku, Bapak Herbambang dan Ibu Padilah S,pd. Terimakasih Ayah dan Mamak, atas segala dukungan, do'a dan motivasi yang selama ini diberikan kepada Hilwa. Semoga Ayah dan Mamak senantiasa diberikan kesehatan, umur panjang dan kemudahan atas segala urusan baik di dunia maupun di akhirat.

Kepada suamiku yang kini memersamai langkah ini, Alhafiz Simamora, S,pd. Terimakasih abang sudah menguatkan ketika lemah, mengingatkan ketika lalai. Semoga rumah tangga yang kita bangun senantiasa dalam keberkahan dan keridhoan Allah SWT. Semoga keluarga kita tumbuh menjadi keluarga yang sakinah, mawaddah dan penuh rahmah hingga ke jannahNya.

Kepada saudaraku, kakak Khairatunnisa, S.H dan adik Muhammad Azzaki. Terimakasih untuk semua kebaikan kalian, tingkah aneh dan lucu yang selalu dirindukan. Terimakasih untuk semua gelak tawa dan air mata yang penuh makna. Semoga Allah memudahkan urusan kalian di mana pun berada, serta senantiasa menguatkan hubungan persaudaran kita.

Kepada keluarga besar *Phytoestrogen Project*, Bapak Dr. Apt. Burhan Ma'arif ZA., M.Farm. Terimakasih atas segala bimbingan, arahan, motivasi serta didikan yang sangat bermanfaat. Karena Bapak, perlahan kami tumbuh menjadi manusia kuat

yang berdiri di atas pijakan sendiri. Lebih berani memandang ke depan, serta tak pantang patah ketika terjatuh. Semoga Allah SWT senantiasa melindungi Bapak beserta keluarga. Tidak lupa pula, kakak-kakak senior yang senantiasa membimbing dan meluruskan langkah kami. *Phytoestrogen 14*, mas Reyhan, mas Miftah, mas Putra. *Phytoestrogen 15*, mas Malik, mas Denis, mbak Dila, mbak Kiba dan mas Nanda. *Phytoestrogen 16*, mas Ricky dan mas Aam. Beserta *Phytoestrogen 17* sebagai teman berjuang yang tak kenal lelah, Nisfa, Iffa, Faisal, Luqman, Sur, Hamdan, Fariza dan Dilla. Terimakasih kalian, untuk semua kesabaran dan kebijakan dalam semua proses ini.

Kepada sahabat-sahabatku di LDK At-Tarbiyah UIN Malang, Putri, Ayu, kak Fafa, kak Salsa, kak Lid, Kina, Ifit, Firda, Kak Himma, Fitra, Azizah dan yang lainnya. Terimakasih sudah mengajarkan arti persaudaraan yang sebenarnya. Saling menguatkan ketika lemah, memeluk ketika ringkih dan membantu ketika susah maupun senang. Kalian adalah sosok luar biasa yang pernah kutemukan, semoga persahabatan kita berambung kelak hingga ke jannahNya.

Kepada teman-teman seperjuanganku di Farmasi 2017 (*Farmakan 17*), terimakasih sudah mengajarkan arti pertemanan yang saling *support* dalam proses pembelajaran sejak tahun 2017 hingga 2021 ini. Khususnya teman-temanku di Farmasi A yang kelak akan sangat aku rindukan. Walau jarak akan memisahkan kita, semoga masih ada kesempatan untuk bertemu kelak. Terimakasih telah mengajarkan banyak hal luar biasa kepadaku.

Kepada abang, kakak dan teman-temanku di Ippematang Malang. Terimakasih sudah menjadi rumah dan keluarga di Malang, terimakasih atas segala bimbingan dan arahan yang sangat berarti selama ini. Semoga Allah SWT senantiasa melindungi kalian di manapun berada.

Penulis tak mampu membalas segala kebaikan yang telah dicurahkan oleh orangtua, keluarga dan kerabat yang telah disebutkan di atas. Semoga Allah SWT

membalas kebaikan semuanya dengan kebaikan yang berlipat ganda. Hanya do'a dan rasa syukur yang dapat penulis haturkan. Semoga kita semua senantiasa dikelingi oleh kebaikan hidup dan keberkahan.

- Hilwa Fitri-

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Warahmatullahi Wabarokatuh

Segala puji bagi Allah SWT yang telah memberikan nikmat, rahmat, serta hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi dengan judul **"Studi *In Silico* Aktivitas Antiosteoporosis Ekstrak Etil Asetat *Chrysophyllum cainito* L. Terhadap Protein 1A52 dan 3OLS"**, sebagai salah satu persyaratan untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi (S. Farm). Sholawat serta salam tetap tercurahkan kepada nabi besar Muhammad SAW bagi keluarga, sahabat serta pengikutnya.

Penulis menyadari bahwa banyak pihak yang telah berpartisipasi dalam penyelesaian penulisan skripsi ini, iringan doa dan ucapan terimakasih penulis sampaikan kepada :

1. Prof. Dr. Abdul Haris, M.Ag., selaku Rektor Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Prof. Dr. dr. Yuyun Yueniwati P.W, M.Kes, Sp.Rad.(K), selaku Dekan FKIK UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. apt. Abdul Hakim, S.Si., M.PI., M.Farm., selaku Ketua Program Studi Farmasi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Dr. apt. Burhan Ma'arif ZA., M.Farm., selaku dosen pembimbing pertama yang telah memberikan arahan, bimbingan serta motivasi kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan skripsi ini.
5. Fidia Rizkiah Inayatilah, S.ST., M.Keb. selaku dosen pembimbing kedua yang telah memberikan arahan dan bimbingan kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan skripsi ini.
6. Meilina Ratna Dianti, S.Kep., NS., M.Kep., selaku penguji utama yang telah memberikan kritik dan saran kepada penulis sehingga penulis dapat memperbaiki skripsi ini.

7. Yuwono, S.Sos. selaku Admin Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
8. Segenap Laboran Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang yang telah memberikan ilmunya kepada penulis selama ini.
9. Seluruh dosen program studi farmasi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang yang telah membimbing dan memberikan ilmunya kepada penulis selama ini.
10. Keluarga besar penulis, khususnya kedua orangtua penulis yakni bapak Herbambang dan ibu Padilah, S.pd yang telah memberikan banyak dukungan berupa moral maupun moril.

Penulis tidak dapat membalas semua selain melantunkan doa tulus dan ikhlas semoga Allah SWT memberikan balasan yang lebih baik. Semoga skripsi yang masih memerlukan penyempurnaan ini dapat memberikan manfaat serta menambah hasanah ilmu pengetahuan pembaca. Aamiin.

Wassalamu'alaikum Wr. Wb.

Malang, Juni 2021

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
HALAMAN PERSETUJUAN.....	iii
HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN.....	iv
MOTTO.....	v
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	vi
KATA PENGANTAR.....	ix
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL.....	xiv
DAFTAR GAMBAR.....	xv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xvi
DAFTAR SINGKATAN.....	xvii
ABSTRAK.....	xviii
ABSTRACT.....	xix
مستخلص البحث.....	xx
BAB 1 PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	7
1.3 Tujuan Penelitian.....	7
1.4 Manfaat Penelitian.....	7
1.4.1 Manfaat Teoritis.....	7
1.4.2 Manfaat Praktis.....	8
1.5 Batasan Penelitian.....	8
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	9
2.1 Tinjauan Tanaman.....	9
2.1.1 Klasifikasi <i>C.cainito</i>	9
2.1.2 Deskripsi <i>C.cainito</i>	10
2.1.2.1 Daun Kenitu.....	10
2.1.3 Kandungan Fitokimia <i>C.cainito</i>	11
2.1.4 Manfaat <i>C.cainito</i>	11
2.2 Tinjauan Tentang Ekstrak.....	12
2.2.3 Ekstrak Etil Asetat.....	12
2.3 Tinjauan Tentang Tulang.....	13
2.3.2 Proses <i>Remodelling Tulang</i>	13
2.4 Tinjauan Osteoporosis.....	16
2.4.1 Patofisiologi Osteoporosis.....	16
2.4.1.1 Defisiensi Estrogen.....	17
2.4.1.2 Sitokin.....	17
2.4.1.3 Pembebanan.....	18
2.4.2 Terapi Osteoporosis.....	18
2.4.3 Terapi dengan Fitoestrogen.....	19

2.5 Tinjauan Fitoestrogen.....	20
2.5.1 Hormon Estrogen dan Reseptornya.....	21
2.5.2 Efek Estrogen pada Sel-Sel Tulang.....	23
2.5.2.1 Efek Estrogen pada Aktivitas Osteoklas.....	23
2.5.2.2 Efek Estrogen pada Aktivitas Osteoblas.....	24
2.6 Metode <i>In silico</i>	25
2.7 Hukum Lima Lipinski.....	26
2.8 <i>Software</i> Penunjang.....	26
2.8.1 Chem Draw.....	26
2.8.2 Avogadro.....	27
2.8.3 AutoDock Vina.....	28
2.8.4 Discovery Studio Visualizer.....	29
2.8.5 Webtool SwissADME.....	29
BAB III KERANGKA KONSEPTUAL.....	31
3.1 Kerangka Konseptual.....	31
3.2 Uraian Kerangka Konseptual.....	32
3.3 Hipotesis.....	33
BAB IV METODE PENELITIAN.....	34
4.1 Jenis dan Rancangan Penelitian.....	34
4.2 Waktu Penelitian.....	34
4.3 Sampel Penelitian.....	34
4.4 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional.....	34
4.4.1 Variabel Penelitian.....	34
4.4.2 Definisi Operasional.....	35
4.5 Alat dan Bahan.....	37
4.5.1 Alat Penelitian.....	37
4.5.2 Bahan Penelitian.....	37
4.6 Skema Penelitian.....	38
4.7 Prosedur Penelitian.....	39
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN.....	41
5.1 Preparasi Sampel.....	41
5.1.1 Preparasi Protein Target.....	41
5.1.2 Preparasi Senyawa Hasil <i>Metabolite Profiling</i>	43
5.2. <i>Molecular Docking</i>	46
5.2.1 Hasil <i>Molecular Docking</i> terhadap Protein 1A52.....	46
5.2.1 Hasil <i>Molecular Docking</i> terhadap Protein 1A52.....	47
5.3 Analisis Hasil <i>Molecular Docking</i> terhadap Protein 1A52 dan 3OLS.....	50
5.4. Analisis Fisikokimia.....	55
5.5. Potensi Agen Antiosteoporosis dari Ekstrak Etil Asetat Daun <i>C. cainito</i> ..	58
5.6 Integrasi Penelitian dengan Kajian Al-Qur'an.....	61
BAB VI PENUTUP.....	66
6.1 Kesimpulan.....	66
6.2 Saran.....	66

DAFTAR PUSTAKA.....	67
LAMPIRAN-LAMPIRAN.....	72

DAFTAR TABEL

Tabel 4.1 Definisi Operasional.....	37
Tabel 5.1. Nilai RMSD Dari Proses Validasi Internal AutoDock Vina.....	42
Tabel 5.2. Kode SMILES Senyawa Hasil <i>Metabolite Profiling</i> Ekstrak Etil Asetat.....	44
Tabel 5.3. Nilai Paramater Ligan Internal terhadap Protein 1A52.....	47
Tabel 5.4. Hasil <i>Molecular Docking</i> terhadap Protein 1A52.....	47
Tabel 5.5. Nilai Paramater Ligan Internal terhadap Protein 3OLS.....	48
Tabel 5.6. Hasil <i>Molecular Docking</i> terhadap Protein 3OLS.....	49
Tabel 5.7. Hasil Analisis Fisikokimia Senyawa Agonis.....	56

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1. Tanaman <i>C.cainito</i>	9
Gambar 2.2. Struktur Estradiol.....	21
Gambar 2.3. Tampilan Software Chem Draw.....	27
Gambar 2.4. Tampilan Avogadro.....	28
Gambar 2.5. Tampilan Autodock Vina Saat Proses Autogrid.....	28
Gambar 2.6. Tampilan Biovia Discovery Studio Visualizer	29
Gambar 2.7. Tampilan <i>Webtool</i> SwissADME.....	30
Gambar 3.1. Kerangka Konseptual.....	31
Gambar 4.1. Skema Penelitian.....	38
Gambar 5.1. Protein (A) 1A52, dan (B) 3OLS dengan ligan 17 β -estradiol.....	41
Gambar 5.2. Hasil <i>molecular docking</i> senyawa bolandiol dengan protein (A) 1A52; (B) 3OLS.....	54
Gambar 5.5. Letak senyawa dalam <i>Boiled</i> EGG.....	57

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Tabel Interpretasi Hasil Kandungan Senyawa Ekstrak Etil Asetat Daun <i>Chrysophyllum cainito</i> L. dengan UPLC Qtof Ms/Ms.....	72
Lampiran 2. Tabel Hasil Molecular Docking 26 senyawa Hasil <i>Metabolite profiling</i> Ekstrak Etil Asetat Daun Kenitu terhadap Protein 1A52.....	79
Lampiran 3. Tabel Hasil Molecular Docking 26 senyawa Hasil <i>Metabolite profiling</i> Ekstrak Etil Asetat Daun Kenitu terhadap Protein 3OLS.....	83
Lampiran 4. Proses Analisis <i>In silico</i> Salah Satu Senyawa Hasil <i>Metabolite Profiling</i> Ekstrak Etil Asetat Daun Kenitu.....	87
Lampiran 5. Hasil Analisis Fisikokimia Salah Satu Senyawa yang Agonis terhadap Protein 1A52 dan 3OLS.....	88
Lampiran 6. Proses <i>skrining Boiled EGG</i> 11 Senyawa Agonis Ekstrak Etil Asetat Daun Kenitu terhadap Protein 1A52 dan 3OLS.....	89

DAFTAR SINGKATAN

BBB	: <i>Blood Brain Barrier</i>
BM	: <i>Berat Molekul</i>
<i>C. cainito</i>	: <i>Chrysophyllum cainito</i>
CNTF	: <i>Ciliary Neurotropic Factor</i>
ER	: <i>Estrogen Receptor</i>
GM-CSF	: <i>Granulocyte Macrophage-Colony Stimulating Factor</i>
HBA	: <i>Hydrogen Bond Aceptor</i>
HBD	: <i>Hydrogen Bond Donor</i>
IHC	: <i>Immunohistochemistry</i>
IL	: <i>Interleukin</i>
LIF	: <i>Leukemia Inhibitory Factor</i>
M-CSF	: <i>Macrophage-Colony Stimulating Factor</i>
OPG	: <i>osteoprotegerin</i>
OSM	: <i>Oncostatin M</i>
PDB	: <i>Protein Data Bank</i>
RMSD	: <i>Root Mean Square Deviation</i>
SERM	: <i>selective estrogen receptor modulators</i>
SMILES	: <i>simplified molecular-input line-entrys</i>
TGF- β	: <i>transforming growth factor beta</i>
TNF- α	: <i>tumor necrosis factor-alpha</i>
TPSA	: <i>Topological Polar Surface Area</i>
TSH	: <i>Terapi Sulih Hormon</i>
UPLC Qtof MS	: <i>Ultra Performance Liquid Chromatography – Quadropole Time of Flight – Mass Spectrometry</i>
USDA	: <i>United States Department of Agriculture</i>

ABSTRAK

Fitri, Hilwa. 2021. **Studi In silico Aktivitas Antiosteoporosis Ekstrak Etil Asetat Daun *Chrysophyllum cainito* L. terhadap Protein 1A52 and 3OLS** Skripsi. Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing I: Dr. apt. Burhan Ma'arif Z.A., M.Farm.; Pembimbing II: Fidia Rizkiah Inayatillah, SST.,M.Keb .; Penguji: Meilina Ratna Dianti, S.Kep., NS., M.Kep.

Osteoporosis merupakan penyakit yang terjadi pada tulang karena kondisi defisiensi estrogen yang dialami oleh wanita pascamenopause. Fitoestrogen dapat digunakan sebagai terapi alternatif untuk kondisi defisiensi estrogen. Daun kenit (*Chrysophyllum cainito* L.) diduga mengandung senyawa fitoestrogen. Penelitian ini bertujuan untuk memprediksi senyawa fitoestrogen yang memiliki aktivitas antiosteoporosis dari hasil *metabolite profiling* ekstrak etil asetat daun kenit terhadap ER- α (1A52) dan ER- β (3OLS). Studi *in silico* dilakukan menggunakan metode Autodock Vina dengan menambatkan senyawa hasil *metabolite profiling* dengan protein 1A52 dan 3OLS. Senyawa hasil *metabolite profiling* ekstrak etil asetat daun kenit dipreparasi menggunakan *software* Avogadro 1.90.0, kemudian dilakukan penambatan molekuler dan dianalisis menggunakan *software* Biovia Discovery Studio Visualizer 2016 untuk mengetahui senyawa agonis. Senyawa yang agonis selanjutnya dilakukan analisis fisikokimia menggunakan *webtool* SwissADME. Hasil penelitian menunjukkan terdapat 10 senyawa yang diprediksi agonis terhadap protein 1A52 dan 8 senyawa yang diprediksi agonis terhadap protein 3OLS. Seluruh senyawa yang diprediksi agonis memenuhi syarat fisikokimia nilai TPSA dan hukum 5 lipinski, sehingga dapat diterima oleh tubuh melalui rute oral. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat daun kenit diprediksi memiliki aktivitas antiosteoporosis.

Kata Kunci : *Chrysophyllum cainito* L., fitoestrogen, antiosteoporosis, *molecular docking*, 1A52, 3OLS.

ABSTRACT

Fitri, Hilwa. 2021. ***In Silico Study of Antiosteoporosis Activity of Ethyl Acetate Extract of *Chrysophyllum cainito* L. Leaves Against 1A52 and 3OLS Proteins.*** Thesis. Pharmacy Study Program, Faculty of Medicine and Health Sciences. Maulana Malik Ibrahim State Islamic University of Malang. Advisor I: Dr. apt. Burhan Ma'arif Z.A., M.Farm.; Supervisor II: Fidia Rizkiah Inayatillah, SST., M.Keb .; Examiner: Meilina Ratna Dianti, S.Kep., NS., M.Kep.

Osteoporosis is a disease that occurs in the bones due to estrogen deficiency conditions experienced by postmenopausal women. Phytoestrogens can be used as an alternative to treat estrogen deficiency. Kenitu leaves (*Chrysophyllum cainito* L.) are thought to contain phytoestrogen compounds. This study aims to predict phytoestrogen compounds. The in silico study was done using the Autodock Vina method by docking the metabolite profiling compounds against 1A52 and 3OLS proteins. The compounds from metabolite profiling then prepared with Avogadro 1.90.0 software, then molecular docking was carried out and analyzed using Biovia Discovery Studio Visualizer 2016 software to determine agonist compounds. The agonist compounds were then carried out to physicochemical analysis by using the SwissADME webtool. The results showed that there were 10 compounds that were predicted to be agonists to the 1A52 protein and 8 compounds that were predicted to be agonists to the 3OLS protein. All compounds that were predicted to be agonists met the physicochemical requirements of TPSA values and Lipinski's law, so they could be accepted by the body through the oral route. The results showed that the ethyl acetate extract of kenitu leaves was predicted to have antiosteoporosis activity.

Keywords : *Chrysophyllum cainito* L., phytoestrogen, antiosteoporosis, molecular docking, 1A52, 3OLS.

مستخلص البحث

فتري، هلوى، 2021. دراسة السيليكو عن نشاط مكافحة هشاشة العظام لمستخلص إيثل أسيتات من مستخلص أوراق *Chrysophyllum cainito* L. نحو البروتينات 1A52 و 3OLS. البحث الجامعي. قسم دراسة الصيدلية. كلية الطب والعلوم الصحية. الجامعة الإسلامية الحكومية مولانا ملك إبراهيم مالانج. المشرف 1 : الدكتور برهان معارف الماجستير، المشرفة 2 : فديا رزقية عناية الله الماجستير. الممتحنة : ميلينا رتنا دينتي الماجستير.

هشاشة العظام من العلم يحدث في العظام بسبب عالات نقص هركون الاستروجين التي تعانيتها النساء بعد سن اليأس. يمكن استخدام فيتويستروغنز كعلاج بديل لحالات نقص هرمون. يعتقد ورق كينيتو (*Chrysophyllum cainito* L.) تحتوي على مركبات الاستروجين النباتي. يهدف هذا البحث إلى التنبؤ بمركبات الاستروجين النباتية التي لها نشاط لهشاشة العظام من التنميط الأيضي لمستخلص أسيتات الإيثيل لورق كونيتو نحو (1A52) ER- α و (3OLS) ER- β . أجريت دراسة السيليكو باستخدام طريقة Autodock Vina عن طريق إضافة مركباتناجحة عن توصيف المستقلب بيروتيينات 1A52 و 3OLS. تم تحضير المركبات الناتجة عن التنميط الأيضي لمستخلص أسيتات الإيثيل من ورق كينيتو باستخدام برنامج 1.90.0 software Avogadro، ثم تم إجراء التثبيت الجزيئي وتحليله باستخدام برنامج software Biovia *Discovery Studio Visualizer 2016*، لتحديد المركبات الناهضة. ثم تم إجراء تحليل فيزيائي كيميائي للمركبات الناهضة باستخدام أداة webtool SwissADME. أظهرت النتائج أن هناك 10 مركبات كان من المتوقع أن تكون ناهضات لبروتين 3OLS استوفت جميع المركبات التي كان من المتوقع أن تكون ناهضات المتطلبات الفيزيائية الكيميائية لقيم TPSA وقانون ليبينكي، بحيث يمكن قبولها من قبل الجسم من خلال المسار الفموي. أظهرت النتائج أن مستخلص أسيتات الإيثيل اوراق كينيتو كان من المتوقع أن يكون له نشاط هشاشة العظام.

الكلمة المفتاحية : *Chrysophyllum cainito* L، فيتويستروغنز، هشاشة العظام، molecular docking،

1A52, 3OLS.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Selama mengalami transisi dari masa reproduksi menuju masa pascamenopause, seorang wanita akan mengalami banyak perubahan fisik yang sebagian besar merupakan konsekuensi normal dari tahap penuaan. Hal ini dikarenakan berkurangnya aktivitas hormonal ovarium dan kadar estrogen (defisiensi estrogen) (Studzińska, *et al.* 2014). Pada tahun 2030 wanita yang mengalami pascamenopause di dunia diproyeksikan meningkat menjadi 1,2 miliar dengan 47 juta penderita baru di setiap tahunnya (Schneider dan Birkhäuser, 2017). WHO mendefinisikan pascamenopause sebagai suatu fase yang terjadi pada wanita yang telah berhenti mengalami pendarahan menstruasi selama satu tahun atau berhenti mengalami menstruasi setelah dilakukan intervensi medis atau bedah.

Pada wanita pascamenopause, perubahan hormonal dapat memengaruhi kualitas hidup. Gejala yang sering dilaporkan oleh wanita pascamenopause ialah rasa panas yang berlebihan pada tubuh, berkeringat di malam hari, gangguan tidur, frekuensi buang air kecil yang meningkat, berkurangnya cairan vagina, penurunan daya ingat, kecemasan dan depresi (Bairy *et al.*, 2009). Sebuah studi berbasis populasi di Amerika Serikat yang dilakukan kepada 2.703 wanita pascamenopause berusia 40-65 tahun menunjukkan bahwa terdapat beberapa gejala utama yang umum dirasakan yakni,

rasa panas yang memengaruhi pekerjaan (46,0%), gangguan tidur (82,0%), perubahan suasana hati (68,6%), perubahan konsentrasi (69,0%), aktivitas seksual (40,9%) dan kualitas hidup secara keseluruhan (69,3%). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa gejala pascamenopause yang dialami wanita-wanita tersebut menyebabkan penurunan kualitas hidup (Schneider dan Birkhäuser, 2017).

Selain gejala-gejala di atas, wanita pascamenopause juga memiliki risiko untuk mengalami penyakit kronis yakni osteoporosis (Utami *et al*, 2019). b (Gheita, 2018).

Berdasarkan pemaparan di atas, maka pascamenopause akan menjadi masalah utama yang mempengaruhi kualitas hidup wanita. Oleh karenanya diperlukan perhatian lebih pada wanita pascamenopause khususnya wanita pascamenopause penderita osteoporosis, yang di mana penyakit ini memiliki angka mortalitas yang cukup tinggi. Secara klinis saat ini terdapat empat kategori obat-obatan yang digunakan sebagai terapi osteoporosis, di antaranya ialah terapi sulih hormon (TSH), *selective estrogen receptor modulators* (SERM), bifosfonat dan kalsitonin. Penggunaan secara jangka panjang dapat menimbulkan efek samping yang menjadi masalah kesehatan baru. Pasien yang menerima terapi TSH, memiliki risiko efek samping kanker rahim, kanker payudara serta meningkatkan risiko penyakit jantung

koroner. SERM memiliki efek samping meningkatkan risiko trombosis vena dalam. Penggunaan bifosfonat dapat menyebabkan terhambatnya mineralisasi tulang dan menyebabkan terjadinya pelunakan tulang, sedangkan penggunaan kalsitonin secara tunggal, dapat mengurangi kalsium darah (Jiang *et al.* 2018).

Fitoestrogen merupakan sekelompok senyawa yang terkandung dalam tumbuhan dan memiliki struktur seperti estrogen atau dapat menggantikan fungsi estrogen dalam tubuh. Fitoestrogen memiliki banyak kesamaan dengan 17- β -estradiol, bentuk alami estrogen yang paling poten (Ma'arif, dkk. 2019). Penggunaan fitoestrogen memiliki efek keamanan yang lebih baik dibandingkan dengan estrogen sintesis atau obat-obat hormonal pengganti, sehingga fitoestrogen merupakan salah satu alternatif pengganti estrogen yang potensial dengan efek samping yang minimal. Selain mudah didapatkan, senyawa golongan fitoestrogen juga dilaporkan memiliki khasiat untuk meningkatkan massa tulang (Ma'arif dan Agnis, 2019).

Penelitian ini dilakukan dalam usaha penemuan obat baru untuk pencegahan dan pengobatan osteoporosis yang lebih aman dan mudah didapatkan. Tumbuhan merupakan salah satu alternatif sumber pengobatan, karena memiliki berbagai kandungan metabolit yang jika dikelola dengan baik maka akan membawa banyak manfaat khususnya di bidang kesehatan. Usaha penemuan obat baru dari tanaman merupakan salah satu contoh implementasi dari Al-Qur'an. Allah SWT berfirman dalam Al-Qur'an Surat Qaf Ayat 7 yang bunyinya :

وَالْأَرْضَ مَدَدْنَاهَا وَأَلْقَيْنَا فِيهَا رَوَاسِيَ وَأَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ بَهِيجٍ

Artinya : *Dan Kami hamparkan bumi itu dan Kami letakkan padanya gunung-gunung yang kokoh dan Kami tumbuhkan padanya segala macam tanaman yang indah dipandang mata (Qaf:7)*

Menurut tafsir An-Nafahat Al-Makkiyah yang ditulis oleh Syaikh Muhammad bin Shalih asy-Syawi, makna dari kalimat “*dan Kami tumbuhkan padanya segala macam tanaman yang indah dipandang mata*” pada ayat ini ialah, dari seluruh jenis tanaman yang membuat orang-orang yang memandangnya senang dan kagum, menjadikan orang yang memandang tanaman-tanaman itu senang dan tanaman tersebut dimanfaatkan manusia untuk berbagai kepentingannya. Salah satu kebermanfaatan yang diambil dari keindahan tanaman yang Allah SWT ciptakan ialah dengan melakukan penelitian terhadapnya. Melalui penelitian dari tanaman-tanaman ini, dapat ditemukan manfaat yang lebih luas. Di antaranya ialah manfaat tanaman tersebut di bidang kesehatan, khususnya sebagai obat baru dalam menangani penyakit yang prevalensinya besar seperti osteoporosis. Salah satu tanaman yang diduga memiliki aktivitas antiosteoporosis ialah tanaman *Chrysophyllum cainito* L. (*C.cainito*).

C.cainito adalah tanaman yang berasal dari Amerika, dengan beberapa spesiesnya di Afrika barat dan Australia. Di daerah asalnya, *C.cainito* biasa disebut *Start Apple* dan di Indonesia tanaman ini dikenal dengan nama lokal kenitu. Daun kenitu secara tradisional banyak digunakan masyarakat untuk mengatasi inflamasi, infeksi paru-paru dan menurunkan kadar gula darah (Ningsih, *et al.* 2016).

Berdasarkan skrining fitokimia, daun *C. cainito* dilaporkan mengandung beberapa golongan senyawa fitokimia seperti alkaloid, fenol, sterol, triterpen dan flavonoid (Shailajan dan Deepti, 2014). Senyawa flavonoid yang terkandung dalam daun *C. cainito* di antaranya adalah isoflavon. Isoflavon merupakan salah satu senyawa yang bersifat fitoestrogenik (Mario, 2005). Pada penelitian sebelumnya dilaporkan bahwa ekstrak etil asetat daun *C. cainito* memiliki aktivitas meningkatkan kepadatan tulang trabekular vertebra pada mencit betina yang diinduksi deksametason (Mustofa, 2018). Pelarut Ekstrak etil asetat juga lebih dipilih karena pelarut ini bersifat tidak terlalu toksik (toksik rendah). Pelarut ini juga bersifat semi polar sehingga mampu menarik senyawa semipolar dari daun kenitu (Joshi and Nisha, 2019. Akbar, 2010).

Penelitian ini juga terintegrasi untuk jamaah haji yang berisiko mengalami patah tulang karena riwayat penyakit osteoporosis. Ibadah haji merupakan ibadah yang wajib dilakukan bagi seseorang yang mampu, salah satunya adalah mampu dari segi kesehatan tubuhnya. Hal ini dikarenakan kegiatan ibadah haji memerlukan aktivitas fisik yang lebih berat dari aktivitas yang biasa dilakukan sehari-hari (Yusri, dkk., 2020). Berdasarkan data dari Kementrian Kesehatan tahun 2019, proporsi jamaah haji terbanyak ialah pada jamaah usia 51-60 tahun dengan persentase mencapai kurang lebih 35% dan menurut jenis kelamin menunjukkan bahwa jamaah perempuan lebih banyak yaitu 55,2% daripada laki-laki yaitu 44,8% (Kemenkes RI, 2020). Sedangkan berdasarkan laporan dari Kantor Kesehatan Haji Indonesia (KKHI) Makkah pada tahun 2019, kasus fraktur atau patah tulang pada jamaah haji lansia menjadi kasus penyakit kedua terbanyak yang ditangani. Faktor usia dan riwayat

osteoporosis, menjadi pemberat kasus fraktur. Jumlah kasusnya pada tahun 2019 cenderung meningkat dibandingkan tahun-tahun sebelumnya (Astuti, 2019). Mengingat tingginya jumlah jamaah haji wanita lansia dan tingginya prevalensi osteoporosis pada wanita pascamenopause, menyebabkan perlu adanya terapi yang tepat dan aman untuk menangani kondisi osteoporosis maupun mengurangi risiko terjadinya fraktur pada wanita pascamenopause, sehingga jamaah haji dapat menjalankan ibadah dengan khushuk dan tentunya meningkatkan kualitas hidup.

Ilmu pengetahuan serta teknologi komputasi yang semakin maju dan berkembang merupakan peluang untuk mengembangkan simulasi dan kalkulasi dalam merancang obat. Metode yang digunakan pada suatu kondisi ke dalam simulasi komputer dengan menggunakan program tertentu disebut metode *in silico*. Metode *in silico* dapat digunakan dalam memprediksi toksisitas, sifat fisikokimia, sifat farmakokinetik dan *molecular docking* (Hardjono, 2013).

Molecular docking atau penambatan molekuler adalah pemodelan komputasi yang digunakan untuk memprediksi interaksi yang dibentuk oleh dua atau lebih molekul yang berinteraksi. Hasil penambatan sendiri, hanya menghasilkan kandidat struktur yang paling memungkinkan atau mirip dengan struktur aslinya. *Molecular docking* sering digunakan untuk memprediksi orientasi pengikatan kandidat senyawa obat dengan target protein, dengan memprediksi afinitas dan aktivitas molekul. Dalam banyak aplikasi penemuan obat, penambatan dilakukan antara molekul kecil dan makromolekul, misalnya penambatan protein dengan ligan (Martínez, *et al.* 2018).

Berdasarkan uraian di atas, maka perlu dilakukan pengujian secara *in silico* untuk memprediksi hasil *metabolit profiling* senyawa dalam ekstrak etil asetat daun *C. cainito* yang dapat berikatan agonis dengan Estrogen reseptor- β (ER- β) dan Estrogen reseptor α (ER- α). Pelarut Ekstrak etil asetat lebih dipilih karena merupakan pelarut yang bersifat tidak terlalu toksik (toksik rendah). Pengamatan *in silico* terfokus terhadap interaksi agonis senyawa uji dengan protein 3OLS (kode protein reseptor ER- β) dan 1A52 (kode protein reseptor ER- α). Kedua protein ini dijadikan pengamatan karena keduanya memainkan peran penting dalam regulasi homeostasis sel tulang. (Villa et al., 2016; Muchtaridi et al., 2018).

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah terdapat senyawa dari ekstrak etil asetat daun *C. cainito* yang diprediksi berikatan agonis terhadap ER- α (1A52)?
2. Apakah terdapat senyawa dari ekstrak etil asetat daun *C. cainito* yang diprediksi berikatan agonis terhadap ER- β (3OLS)?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Memprediksi adanya senyawa fitoestrogen dari ekstrak etil asetat daun *C. cainito* yang berikatan agonis terhadap ER- α secara *in silico*
2. Memprediksi adanya senyawa fitoestrogen dari ekstrak etil asetat daun *C. cainito* yang berikatan agonis terhadap ER- β secara *in silico*

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Teoritis

Manfaat teoritis dari penelitian ini adalah hasil penelitian nantinya akan menjadi sumbangan pemikiran atau konsep-konsep terkait terapi osteoporosis yang lebih aman dapat dijadikan sebagai acuan untuk penelitian selanjutnya.

1.4.2 Manfaat Praktis

Manfaat praktis dari penelitian ini adalah data hasil penelitian dapat dijadikan sebagai dasar pemanfaatan daun *C. cainito* yang lebih baik di masyarakat, khususnya sebagai tanaman obat yang berpotensi sebagai agen antiosteoporosis .

1.5 Batasan Penelitian

1. Studi *in silico* hanya bersifat prediksi dengan cara membandingkan hasil senyawa kandidat yang diduga bersifat estrogenik dengan parameter ligan internal.
2. Tanaman yang digunakan ialah tanaman dengan nama latin *Chrysophyllum cainito* L. atau yang dikenal dengan nama lokal **kenitu** di Indonesia.
3. Bagian tanaman yang digunakan ialah bagian daun yang berwarna hijau muda, diperoleh dari UPT Materia Medika Batu
4. Penambatan senyawa dilakukan terhadap estrogen reseptor- α dengan kode protein 1A52 estrogen reseptor- β dengan kode protein 3OLS yang diperoleh dari *protein data bank*.
5. Software yang digunakan adalah software virtual docker seperti Biovia Discovery Studio 2016 Visualizer, ChemDraw 15 dan Autodock Vina.
6. Ikatan antara ligan dan reseptor yang diamati pada penelitian ini ialah ikatan agonis.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Tanaman

2.1.1 Klasifikasi *C. cainito*

Menurut USDA (2004), klasifikasi dari tanaman kenitu adalah sebagai berikut :

Kingdom : Plantae

Divisi : Magnoliophyta

Kelas : Magnoliopsida

Ordo : Ebenales

Famili : Sapotaceae

Genus : *Chrysophyllum* L.

Spesies : *Chrysophyllum cainito* L.



Gambar 2.1. Tanaman *C. cainito*

2.1.2 Deskripsi *C. cainito*

C.cainito adalah tanaman yang berasal dari Amerika, dengan beberapa spesiesnya di Afrika barat dan Australia. Kenitu merupakan jenis tumbuhan berhabitus pohon yang tingginya berkisar 10-30 meter, berumur menahun (perennial). Di daerah asalnya, *C.cainito* biasa disebut *Star Apple*. Sedangkan di Indonesia, tanaman ini dikenal dengan nama lokal kenitu dan banyak terdapat di Pulau Jawa bagian hilir dan daerah pegunungan rendah. (Ningsih, *et al.* 2016. Shailajan dan Deepti, 2014).

Pohon kenitu biasanya mulai berbuah setelah berumur 5-6 tahun. Buahnya berbentuk bulat hingga bulat telur, berdiameter 5-10 cm dengan kulit buah licin mengkilap, coklat keunguan atau hijau kekuningan sampai keputihan. Daging buah putih atau keunguan, lembut dan banyak mengandung sari buah, manis, membungkus endocarp berwarna putih yang terdiri dari 4-11 ruang yang bentuknya mirip bintang jika dipotong melintang bulat, warna hijau keputih-putihan. Bijinya 3-10 butir, pipih agak bulat telur, panjang sekitar 1 cm berwarna coklat muda sampai hitam keunguan dan keras berkilap (Orwa *et al.*, 2009).

2.1.2.1 Daun Kenitu

Kenitu memiliki daun tunggal dengan permukaan atas berwarna hijau dan bawah coklat atau coklat keemasan karena ada bulu-bulu halus yang tumbuh terutama di sisi bawah daun dan rerantingan. Umumnya panjang daun kenitu 9-14 cm dan lebar 3-5 cm. Helaian daun kenitu agak tebal, kaku, bentuk lonjong, ujung runcing, pangkal meruncing, tepi rata, dan pertulangan daun menyirip. Duduk daun berseling,

memencar, bentuk lonjong sampai bundar telur terbalik dengan luas 3-6 x 5-16 cm, dan panjang tangkai daun 0,6-1,7 cm (Koffi *et al.*, 2009).

2.1.3 Kandungan Fitokimia *C. cainito*

C. cainito mengandung vitamin C, antosianin, kandungan fenolik, flavonoid, alkaloid, triterpenoid, karotenoid dan sterol. Kandungan senyawa fenolik yang utama di dalamnya ialah asam galat, asam elagit dan mirecetin yang memiliki aktivitas sebagai antioksidan. *C. cainito* juga mengandung beberapa senyawa antioksidan lainnya seperti, β -sitosterol, lupeol, asam ursolat (Shailajan dan Gurjar, 2014).

2.1.4 Manfaat *C. cainito*

Kenitu umumnya banyak dikonsumsi langsung sebagai buah segar dan dapat digunakan sebagai bahan baku dalam pembuatan es krim atau serbat. Pohon Kenitu banyak digunakan sebagai tanaman hias dan peneduh di taman atau tepi jalan. Kayunya cukup baik sebagai bahan bangunan, dan cabang-cabangnya yang tua dimanfaatkan untuk menumbuhkan anggrek. (Zulaikhah, 2015).

Bagian pohon kenitu seperti daun, getah, buah, biji dan kulit kayunya banyak dimanfaatkan untuk mengobati beberapa penyakit. Buah kenitu segar yang dikonsumsi dapat mengurangi peradangan pada tenggorokan dan paru-paru. Di Venezuela buah setengah masak digunakan untuk mengobati gangguan usus, namun bila berlebihan dapat menyebabkan sembelit. Sedangkan infus kulit buah kaya akan zat tannin yang dipercaya oleh masyarakat Kuba di Miami dapat digunakan untuk antikanker, tonik, stimulant, obat diare, disentri, menghentikan pendarahan, radang dan obat gonorrhoe. Biji kenitu yang rasanya pahit dimanfaatkan untuk mengobati

abses, sedangkan di tempat lain digunakan sebagai diuretic, obat penurun panas dan obat untuk disentri (Ningsih, *et al.* 2016).

2.2. Tinjauan Tentang Ekstrak

Ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (Depkes RI, 2000). Sebagian besar ekstrak dibuat dengan mengekstraksi bahan baku obat secara perkolasi. Seluruh perkolat biasanya dipekatkan dengan cara destilasi dengan pengurangan tekanan, agar bahan utama obat sedikit mungkin terkena panas (Depkes RI, 2000).

2.2.1 Ekstrak Etil Asetat

Etil asetat adalah cairan tidak berwarna dengan bau yang manis. Biasanya digunakan sebagai penghapus cat kuku dan lem, sebagai pengeras di dalam rokok dan cat, sebagai perisa buatan pada parfum dan permen. Di laboratorium, campuran etil asetat dengan pelarut lain biasa digunakan untuk kromatografi kolom dan ekstraksi. Pelarut ini bersifat tidak terlalu toksik (toksik rendah), dengan LD50 untuk tikus adalah 5620 mg / kg . Batas ambang di atas paparan menyebabkan iritasi pada hidung, mata dan tenggorokan, serta kelemahan, kantuk dan bahkan ketidaksadaran. Etil asetat menjadi pelarut yang baik digunakan untuk ekstraksi karena pelarut ini mudah untuk diuapkan, tidak higroskopis dan memiliki toksisitas yang rendah. Etil asetat

bersifat semi polar sehingga mampu menarik senyawa aglikon maupun glikon dari daun kenitu (Joshi and Nisha, 2019. Akbar, 2010)

2.3 Tinjauan Tentang Tulang

Tulang adalah suatu jaringan ikat vaskular terdiri atas sel-sel dan zat antar sel yang mengalami kalsifikasi, seperti tulang padat (tulang kompakta) dan seperti spons (tulang spongiosa). Tulang juga mempunyai banyak fungsi sebagai penyokong, pelindung, penyimpan mineral pada ujung-ujung persendian di mana tulang rawan sebagai pelapis yang khusus untuk mempermudah pergerakan. Tulang juga cukup responsif terhadap pengaruh metabolik, nutrisi, dan endokrin. Namun, dengan segala kekuatan dan kekerasannya, tulang merupakan materi hidup yang dinamis, secara tetap diperbaharui dan dikonstruksi ulang seumur hidup (Gartner dan Hiatt, 2012)

Tulang terdiri dari sel penyangga, yakni osteoblas, osteosit, sel remodeling yang disebut dengan osteoklas, matriks kolagen non mineral dan protein non kolagen yang disebut dengan osteoid, dengan garam mineral inorganik dideposisi di dalam matriks. Sepanjang hidup, tulang mengalami proses pertumbuhan longitudinal dan radial, modeling, dan remodeling. Pertumbuhan longitudinal terjadi pada *growth plates*, dimana kartilago akan berproliferasi pada daerah epifisis dan metafisis dari tulang panjang, sebelum memasuki tahap mineralisasi dan membentuk tulang baru primer (Clarke, 2008).

2.3.1 Proses *remodelling* tulang

Remodelling tulang adalah suatu proses seumur hidup, di mana tulang lama di resorpsi dari skeletal dan tulang baru ditambahkan melalui proses yang disebut osifikasi. *Remodelling* mencakup resorpsi tulang yang terus menerus dan diganti dengan sintesis dan mineralisasi matriks untuk membentuk tulang baru. Proses ini juga mengatur pembentukan atau penggantian tulang selama pertumbuhan dan mengikuti cedera seperti fraktur dan juga kerusakan kecil / microdamage, hal ini mencegah akumulasi kerusakan kecil tulang melalui penggantian tulang lama dengan tulang baru yang terjadi melalui aktivitas normal. *Remodelling* juga merespon kepada *mechanical loading*. Sebagai hasilnya, tulang baru ditambahkan di tempat yang dibutuhkan dan dihilangkan di bagian yang tidak dibutuhkan. Proses ini penting dalam menjaga kekuatan tulang dan homeostasis mineral. Skeletal merupakan organ yang aktif secara metabolik dan mengalami *remodelling* yang terus menerus sepanjang hidup. *Remodelling* ini penting untuk menjaga integritas struktural dari tulang dan juga sebagai fungsi metabolik sebagai tempat penyimpanan kalsium dan fosfor (Pearce *et al.* 2007)

Siklus *remodeling* tulang normal membutuhkan proses resorpsi tulang dan formasi tulang dalam suatu pola yang telah terkoordinasi pada akhirnya bergantung pada perkembangan dan aktivasi osteoklas dan osteoblas. Kemampuan dari tulang yang secara konstan meresorpsi tulang lama dan membentuk tulang baru, menjadikan tulang sebagai suatu jaringan yang sangat dinamis yang memungkinkan terjaganya jaringan tulang, perbaikan dari jaringan yang rusak, dan homeostasis dari *metabolism phosphocalcic*. Siklus remodeling tulang meliputi langkah langkah yang diregulasi

secara baik yang bergantung pada interaksi dua buah turunan sel, yakni turunan osteoblastik mesenkimal dan turunan osteoklastik hematopoetik. Keseimbangan antara resorpsi dan deposisi tulang ditentukan oleh aktivitas dua jenis sel, yakni osteoklas dan osteoblas. Osteoblas dan osteoklas yang digabungkan melalui proses sinyal parakrin, disebut sebagai unit *remodelling* tulang (Pearce et al. 2007; Crockett et al. 2011).

Proses *remodeling* tulang merupakan suatu siklus yang meliputi tahapan yang kompleks yaitu (Amran, 2011):

1. Tahap aktivasi (*activation phase*) adalah tahap interaksi antara prekursor osteoblas dan osteoklas, kemudian terjadi proses diferensiasi, migrasi, dan fusi multinucleated osteoclast dan osteoklas yang terbentuk kemudian akan melekat pada permukaan matrik tulang dan akan dimulai tahap berikutnya yaitu tahap resorpsi.

2. Tahap resorpsi (*resorption phase*) adalah tahap pada waktu osteoklas akan mendegradasi seluruh komponen matriks tulang termasuk kolagen. Setelah terjadi resorpsi maka osteoklas akan membentuk lekukan atau cekungan tidak teratur yang biasa disebut lakuna howship pada tulang trabekular dan saluran haversian pada tulang kortikal.

3. Tahap reversal (*reversal phase*), adalah tahap pada waktu permukaan tulang sementara tidak didapatkan adanya sel kecuali beberapa sel mononuclear yakni makrofag, kemudian akan terjadi degradasi kolagen lebih lanjut dan terjadi deposisi proteoglikan untuk membentuk *command line* yang akan melepaskan faktor pertumbuhan untuk dimulainya tahap formasi.

4. Tahap formasi (*formation phase*), adalah tahap pada waktu terjadi proliferasi dan diferensiasi prekursor osteoblas yang dilanjutkan dengan pembentukan matrik. Proses resorpsi tulang memerlukan waktu 3 hari, kemudian fase reversal (fase periode antara dengan pembentukan tulang) memerlukan waktu 14 hari dan pembentukan tulang selama 70 hari, sehingga total waktu yang diperlukan adalah 87 hari. Pada tulang dewasa normal proses pembentukan tulang hanya ditempatkan yang sudah terjadi reasorpsi, maka proses yang terjadi ditempat remodeling tulang ini melalui proses dasarnya yaitu Aktivasi-Resorpsi-Pembentukan. Mekanisme pembentukan tulang melalui 3 tahap yaitu produksi, maturasi, dan mineralisasi

2.4 Tinjauan Osteoporosis

Osteoporosis adalah penyakit tulang yang ditandai dengan adanya penurunan masa kepadatan tulang, kerusakan jaringan tulang dan gangguan mikroarsitektur tulang. Pada dasarnya osteoporosis dibagi menjadi dua tipe berdasarkan faktor penyebabnya yaitu osteoporosis primer dan sekunder. Osteoporosis primer yaitu osteoporosis yang faktor penyebab terjadinya dapat diketahui, sedangkan pada osteoporosis sekunder belum diketahui faktor penyebabnya. Seiring dengan berkembangnya pengetahuan, terdapat pembagian tipe pada osteoporosis primer yaitu tipe I dan tipe II. Beberapa literatur lain juga menyebutkan bahwa terdapat pembagian klasifikasi dari osteoporosis di antaranya yaitu osteoporosis pascamenopause (tipe I), osteoporosis involutional (tipe II), osteoporosis juvenil, osteoporosis sekunder, dan osteoporosis idiopatik (Permana, 2016).

2.4.1 Patofisiologi Osteoporosis

Terjadinya osteoporosis secara seluler disebabkan karena jumlah dan aktivitas sel osteoklas melebihi dari jumlah dan aktivitas sel osteoblas (sel pembentuk tulang). Keadaan ini mengakibatkan penurunan massa tulang. Terdapat beberapa teori yang menyebabkan diferensiasi sel osteoklas meningkat dan meningkatkan aktivitasnya yaitu: defisiensi estrogen, faktor sitokin dan pembebanan (Kawiyana, 2009).

2.4.1.1 Defisiensi Estrogen

Dalam keadaan normal estrogen dalam sirkulasi mencapai sel osteoblas, dan beraktivitas melalui reseptor yang terdapat di dalam sitosol sel tersebut, mengakibatkan menurunnya sekresi sitokin seperti: *Interleukin-1* (IL-1), *Interleukin-6* (IL-6) dan *Tumor Necrosis Factor-Alpha* (TNF- α), merupakan sitokin yang berfungsi dalam penyerapan tulang. Di lain pihak estrogen meningkatkan sekresi *Transforming Growth Factor β* (TGF- β), yang merupakan satu-satunya faktor pertumbuhan (*growthfactor*) yang merupakan mediator untuk menarik sel osteoblas ke tempat lubang tulang yang telah diserap oleh sel osteoklas. Sel osteoblas merupakan sel target utama dari estrogen, untuk melepaskan beberapa faktor pertumbuhan dan sitokin seperti tersebut diatas, sekalipun secara tidak langsung maupun secara langsung juga berpengaruh pada sel osteoklas (Kawiyana, 2009).

2.4.1.2 Sitokin

Pada stadium awal dari proses hematopoiesis dan osteoklastogenesis, melalui suatu jalur yang memerlukan suatu mediator berupa sitokin dan faktor koloni-stimulator. Di antara kelompok sitokin yang menstimulasi osteoklastogenesis antara lain adalah: IL-1, IL-3, IL-6, *Leukemia Inhibitory Factor* (LIF), *Oncostatin M*

(OSM), *Ciliary Neurotropic Factor* (CNTF), *Tumor Necrosis Factor* (TNF), *Granulocyte Macrophage-Colony Stimulating Factor* (GM-CSF), dan *Macrophage-Colony Stimulating Factor* (M-CSF). Sedangkan IL-4, IL-10, IL-18, dan interferon- γ , merupakan sitokin yang menghambat osteoklastogenesis. *Interleukin-6* merupakan salah satu yang perlu mendapatkan perhatian, oleh karena meningkatnya IL-6 terbukti memegang peranan akan terjadinya beberapa penyakit, antaranya berpengaruh pada *remodelling* tulang dan terjadinya penyerapan tulang berlebihan baik lokal maupun sistemik (Kawiyana, 2009).

2.4.1.3 Pembebanan

Pembebanan mekanik pada tulang (*skletal load*) menimbulkan stres mekanik dan *strain* atau *resultant tissue deformation* yang menimbulkan efek pada jaringan tulang yaitu pembentukan tulang pada permukaan periosteal sehingga memperkuat tulang dan menurunkan bone turnover yang mengurangi penyerapan tulang. Dengan demikian pembebanan mekanik dapat memperbaiki ukuran, bentuk, dan kekuatan jaringan tulang dengan memperbaiki densitas jaringan tulang dan arsitektur tulang. Tulang melakukan adaptasi mekanik yaitu proses seluler yang memerlukan sistem biologis yang dapat mengindera pembebanan mekanik. Informasi pembebanan ini harus dikomunikasikan ke sel efektor yang akan membuat tulang baru dan merusak tulang yang tua (Kawiyana, 2009).

2.4.2 Terapi Osteoporosis

Secara klinis saat ini terdapat empat kategori obat-obatan yang digunakan sebagai terapi osteoporosis. Di antaranya ialah terapi sulih hormon (TSH), *selective*

estrogen receptor modulators (SERM), bifosfonat dan kalsitonin. Namun penggunaan secara jangka panjang dapat menimbulkan efek samping yang menjadi masalah kesehatan baru. Pasien yang menerima terapi TSH, memiliki risiko mengalami efek samping kanker rahim, kanker payudara serta meningkatkan risiko penyakit jantung koroner. SERM memiliki efek samping meningkatkan risiko trombosis vena dalam. Penggunaan bifosfonat dapat menyebabkan terhambatnya mineralisasi tulang dan menyebabkan terjadinya pelunakan tulang. Sedangkan penggunaan kalsitonin secara tunggal, dapat mengurangi kalsium darah (Jiang, dkk. 2018).

2.4.3 Terapi dengan Fitoestrogen

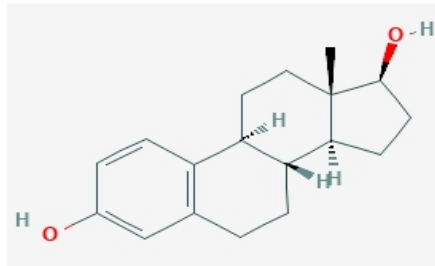
Fitoestrogen merupakan alternatif pengganti estrogen yang potensial tanpa memiliki efek samping yang berbahaya (Villiers, 2009). Fitoestrogen sendiri merupakan golongan senyawa berasal dari tumbuhan yang dapat menggantikan fungsi estrogen dalam ikatannya dengan reseptor estrogen (*estrogen like substance*), selain mudah didapatkan senyawa golongan fitoestrogen juga dilaporkan mempunyai khasiat untuk meningkatkan massa tulang (Yang *et al.*, 2012). Pengaruh fitoestrogen pada metabolisme tulang disebabkan oleh ikatan fitoestrogen pada ER- β dan ER- α yang terdapat pada tulang, yang akan mempengaruhi massa tulang melalui hambatan aktivitas osteoklas dan peningkatan aktivitas osteoblas, serta peningkatan sekresi kalsitonin yang akan menghambat aktivitas PTH terhadap proses resorpsi tulang (Baziad, 2003).

2.5 Tinjauan Fitoestrogen

Fitestrogen (*estrogen like substance*), selain mudah didapatkan senyawa golongan fitoestrogen juga dilaporkan mempunyai khasiat untuk meningkatkan massa tulang. Pengertian fitoestrogen sendiri saat ini masih banyak diperdebatkan, di mana ada beberapa teori yang menyebutkan senyawa golongan fitoestrogen merupakan senyawa dari tanaman yang memiliki struktur mirip estradiol (17β -estradiol), seperti senyawa golongan isoflavon (genistein, deidzein), isosterol, triterpenoid dan steroid. Namun pada perkembangannya, muncul teori yang menyebutkan fitoestrogen merupakan senyawa dari tanaman yang dapat menggantikan fungsi estrogen dalam ikatannya dengan estrogen reseptor. Pengertian fitoestrogen yang kedua ini memiliki arti yang lebih luas dari pengertian pertama, karena senyawa tidak dibatasi dengan struktur yang harus mirip dengan estradiol (17β -estradiol), namun hanya dipersyaratkan untuk dapat berikatan dengan estrogen reseptor dengan afinitas yang baik dan dapat menimbulkan efek terapi yang mirip dengan estrogen (Villiers, 2009).

Pada tanaman dikenal ada beberapa kelompok fitoestrogen yaitu; isoflavon, lignan, kumestan, triterpen, glikosida, dan senyawa lain yang berefek estrogenik, seperti *flavones*, *chalcones*, *diterpenoids*, *triterpenoids*, *coumarins* dan *acyclics*. Pada kelompok fitoestrogen tersebut isoflavon merupakan senyawa yang banyak dimanfaatkan, dikarenakan kandungan fitoestrogen yang cukup tinggi. Senyawa isoflavon merupakan senyawa metabolit sekunder yang banyak disintesis oleh tanaman. Senyawa fitoestrogen merupakan senyawa yang memiliki sifat dan khasiat yang sama dengan hormon estrogen atau dapat berinteraksi dengan reseptor estrogen.

Fitoestrogen banyak ditemukan pada tanaman kelompok biji-bijian, buah-buahan dan sayuran. Secara struktur dan fungsional, fitoestrogen serupa dengan estradiol (17β -estradiol) dan merupakan senyawa difenolik non-steroid (Widiyati, 2006).



Gambar 2.2. Struktur Estradiol

2.5.1 Hormon Estrogen dan Reseptornya

Estrogen merupakan hormon steroid yang memiliki kadar paling tinggi di dalam tubuh seorang wanita. Estrogen pada wanita diproduksi di ovarium serta kelenjar adrenal. Estrogen memiliki tiga macam bentuk antara lain estron (E1), estradiol (E2) dan Estriol (E3). Ketiga estrogen tersebut berfungsi untuk menjaga homeostatis tubuh pada seorang wanita. Dari ketiga macam bentuk tadi, estradiol adalah bentuk yang paling aktif dan memiliki peranan penting dalam sirkulasi maupun regulasi organ seperti otak, tulang, kardiovaskular, kulit hingga sistem imun (Rettberg *et al.*, 2013; Ma'arif *et al.*, 2016)

Efek estrogen hanya terlihat pada sel-sel dan jaringan yang memiliki reseptor estrogen. Fungsi estrogen dalam tubuh manusia ditentukan oleh jenis reseptor estrogen, lokasi reseptor dan interaksinya antara estrogen, reseptornya dan struktur lain di dalam sel target. Sejauh ini dikenal dua jenis reseptor estrogen: reseptor alfa (ER- α) dan reseptor beta (ER- β). Meskipun ER- α dan ER- β berinteraksi

dengan ligan estrogen yang sama yakni estradiol-17 β , keduanya memiliki perilaku yang berbeda, bahkan bertentangan. Sebagai contoh, ER- α yang terikat dengan ligan dapat mengaktivasi transkripsi gen, sedangkan ER- β justru menghambat transkripsi. ER- α dan ER- β memiliki struktur fisik yang terbagi atas beberapa domain fungsional domain transaktivasi terminal-N (NTD), domain pengikat DNA (DBD), dan domain transaktivasi terminalC yang merupakan domain pengikat ligan estrogen (HBD). Setiap domain memiliki fungsi tersendiri dalam interaksi reseptor dengan ligan dan interaksi dengan DNA pada saat domain tersebut menggiatkan atau menghambat transkripsi genetic (Sihombing, dkk. 2012).

Efek biologik estrogen dimulai ketika estrogen (sebagai ligan) berdifusi ke dalam sel lalu berikatan dengan domain pengikat ligan HBD. Sebelum mengikat ligan, reseptor estrogen berada dalam keadaan inaktif di dalam nukleus atau sitoplasma sel dan terikat dengan protein tertentu yang disebut *receptor-associated protein* (RAP). RAP terikat pada domain pengikat DNA (DBD) dan berfungsi sebagai saperon (chaperone) yang menstabilkan struktur reseptor sebelum ia teraktivasi. Saat berikatan dengan ligan dan terlepas dari RAP, reseptor akan teraktivasi dan terbentuklah kompleks estrogen-reseptor yang mampu menembus masuk ke nukleus (translokasi) apabila ia masih berada dalam sitoplasma. Kompleks estrogen-reseptor ini akan berikatan dengan bagian tertentu pada DNA yang disebut estrogen-response-element (ERE). Proses ini berlanjut sebagai transkripsi genetik yang kompleks yang menentukan efek biologis estrogen di dalam sel bersangkutan. Mekanisme tersebut memperlihatkan jalur klasik aktivasi reseptor estrogen yang

membutuhkan adanya hormon estrogen sebagai ligan. Jalur klasik ini disebut ligand dependent receptor activation. Aktivasi reseptor dapat pula terjadi melalui jalur- jalur alternatif tanpa melibatkan terbentuknya kompleks estrogen-reseptor atau ketika interaksi estrogen-reseptor terjadi di luar sel (Sihombing, dkk.2012)

2.5.2 Efek Estrogen pada Sel-Sel Tulang

Reseptor estrogen dapat ditemukan pada sel osteoklas maupun osteoblas. Estrogen telah lama dikenal sebagai agen antiresorptif yang bekerja terutama dengan menekan aktivitas osteoklastik. Namun studi-studi terakhir membuktikan bahwa efek antiresorptif tersebut dapat pula dihasilkan melalui kerjanya pada osteoblas yang secara tidak langsung mempengaruhi aktivitas osteoklastik (Sihombing, dkk. 2012).

2.5.2.1 Efek Estrogen pada Aktivitas Osteoklas

Pada percobaan yang dilakukan terhadap hewan coba, defisiensi estrogen akan menyebabkan terjadinya osteoklastogenesis yang meningkat dan berlanjut dengan kehilangan tulang. Hal ini dapat dicegah dengan pemberian estrogen. Dengan defisiensi estrogen ini akan terjadi peningkatan produksi dari IL-1, IL-6, dan TNF- α yang lebih lanjut akan diproduksi M-CSF dan RANK-L. Selanjutnya RANK-L menginduksi aktivitas JNK1 dan osteoclastogenic activator protein-1, faktor transkripsi c-Fos dan c-Jun. Estrogen juga merangsang ekspresi dari OPG dan TGF- β oleh sel osteoblas dan sel stroma, yang selanjutnya berfungsi menghambat penyerapan tulang dan mempercepat/ merangsang apoptosis sel osteoklas (Kawiyana, 2009).

Estrogen mempunyai efek terhadap sel osteoklas, bisa memberikan pengaruh secara langsung maupun tidak langsung. Secara tidak langsung estrogen mempengaruhi proses diferensiasi, aktivasi, maupun apoptosis dari osteoklas. Dalam diferensiasi dan aktivasinya estrogen menekan ekspresi RANK-L, MCSF dari sel stroma osteoblas, dan mencegah terjadinya ikatan kompleks antara RANK-L dan RANK, dengan memproduksi reseptor OPG, yang berkompetisi dengan RANK. Begitu juga secara tidak langsung estrogen menghambat produksi sitokin-sitokin yang merangsang diferensiasi osteoklas seperti: IL-6, IL-1, TNF- α , IL-11 dan IL-7. Terhadap apoptosis sel osteoklas, secara tidak langsung estrogen merangsang osteoblas untuk memproduksi TGF- β , yang selanjutnya TGF- β ini menginduksi sel osteoklas untuk lebih cepat mengalami apoptosis. Sedangkan efek langsung dari estrogen terhadap osteoklas adalah melalui reseptor estrogen pada sel osteoklas, yaitu menekan aktivasi c-Jun, sehingga mencegah terjadinya diferensiasi sel prekursor osteoklas dan menekan aktivasi sel osteoklas dewasa (Kawiyana, 2009).

2.5.2.2 Efek Estrogen pada Aktivitas Osteoblas

Efek estrogen dalam menekan aktivitas osteoklastik dapat terjadi secara tidak langsung melalui aksinya pada reseptor osteoblastik. Salah satu sitokin yang diproduksi oleh osteoblas, TGF- β , ditekan produksinya oleh estrogen. TGF- β berperan dalam diferensiasi osteoklas serta kelangsungan hidupnya.¹⁸ Estrogen pun menstimulasi produksi OPG (osteoprotegerin) oleh osteoblas. OPG merupakan reseptor TNF yang penting dalam menghambat diferensiasi dan aktivitas osteoklas.

Estrogen juga mengendalikan aktivitas osteoklastik dengan menekan produksi interleukin-6 (IL-6) yang diproduksi osteoblast (Kawiyana, 2009).

2.6 Metode *In silico*

In Silico merupakan sebuah metode dengan bantuan perangkat komputer yang dikembangkan dan diterapkan secara luas dan salah satunya untuk membantu pengembangan dalam bidang farmakologi. Metode *In silico* di antaranya mencakup penggunaan database, identifikasi kekerabatan, pengolahan data, pemodelan dan juga penambatan molekuler (*molecular docking*) (Ekins *et al.*, 2007).

Molecular docking (penambatan molekul) dapat dianggap sebagai masalah gembok dan kunci (*lock and key*), protein dapat dianggap sebagai gembok dan ligan dapat dianggap sebagai kunci. *Molecular docking* (penambatan molekul) dapat didefinisikan sebagai masalah optimasi yang akan menggambarkan orientasi ikatan terbaik dari ligan yang mengikat protein tertentu (Mukesh dan Kumar, 2011). Ligan adalah molekul kecil yang berinteraksi dengan daerah ikatan (*binding site*) pada protein. Beberapa kemungkinan konformasi dalam ikatan antara ligan dan protein mungkin terjadi, yang disebut model ikatan (Onkara *et al.*, 2013).

Dalam desain obat modern, *molecular docking* secara rutin digunakan untuk memahami interaksi obat dengan reseptor dan seringkali digunakan untuk memprediksi orientasi ikatan dari kandidat obat pada protein target. Interaksi yang terjadi pada molekul obat dan protein target akan menghasilkan energi ikatan (*binding affinity*) dan aktivitas dari molekul obat tersebut (Onkara *et al.*, 2013). Energi ikatan hasil doking merupakan parameter utama untuk mengetahui kestabilan

antara ligan dan protein. Interaksi antara ligan dan reseptor akan cenderung berada pada kondisi energi yang paling rendah. Energi yang paling rendah menunjukkan bahwa molekul berada pada kondisi yang stabil, sehingga semakin rendah nilai binding afiniti maka interaksi ligan reseptor semakin stabil (Arwansyah *et al.*, 2014).

2.7 Hukum Lima Lipinski

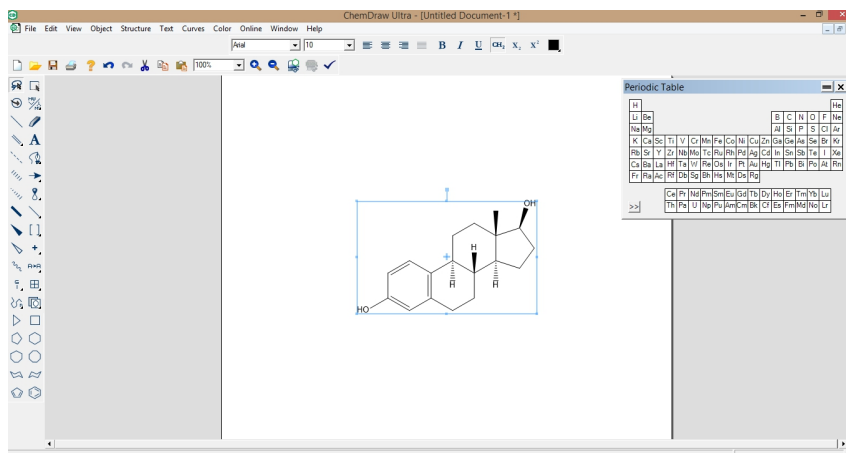
Lipinski et al.(1997) telah menganalisis 2.245 obat dari data dasar World Drugs Index. Hasil analisis menyimpulkan bahwa senyawa akan sulit diabsorpsi dan permeabilitasnya rendah apabila mempunyai: berat molekulnya lebih besar dari 500, nilai log koefisien partisi oktanol/air (log P) lebih besar dari +5; ikatan-H donor (HBD), yang dinyatakan dengan jumlah gugus O-H dan N-H, lebih besar dari 5; dan ikatan-H aseptor (HBA), yang dinyatakan dengan jumlah atom O dan N, lebih besar dari 10. Analisis tersebut dikenal sebagai hukum lima Lipinski karena semua nilai merupakan kelipatan dari angka lima. Analisa dengan menggunakan hukum lima Lipinski dapat digunakan untuk membuktikan bahwa senyawa yang diuji mudah diabsorpsi dan mempunyai permeabilitas yang baik (Kesuma, 2018).

2.8 Software Penunjang

2.8.1 Chem Draw

ChemDraw Ultra 12.0 merupakan salah satu aplikasi yang identik dengan penggambaran struktur. Aplikasi ini terintegrasi dengan *database* online *CambridgeSoft* dan dapat memudahkan pengguna karena dapat menunjukkan struktur secara langsung dengan memasukkan nama senyawa yang diinginkan. ChemDraw menampilkan manual elektronik lengkap, yang mudah diakses

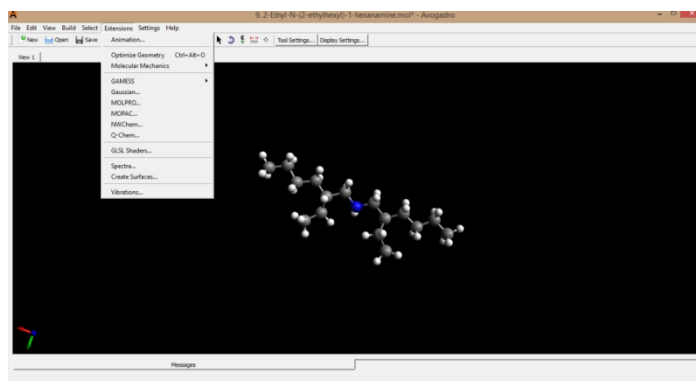
menggunakan daftar isi, indeks, dan fungsi pencarian. Keunggulan lain dari aplikasi ini adalah struktur yang dapat dimasukkan dalam *microsoft office word* dan dapat dikembalikan ke chemdraw apabila ada perubahan lebih lanjut pada strukturnya (Cousins, 2011).



Gambar 2.3. Tampilan Software Chem Draw

2.8.2 Avogadro

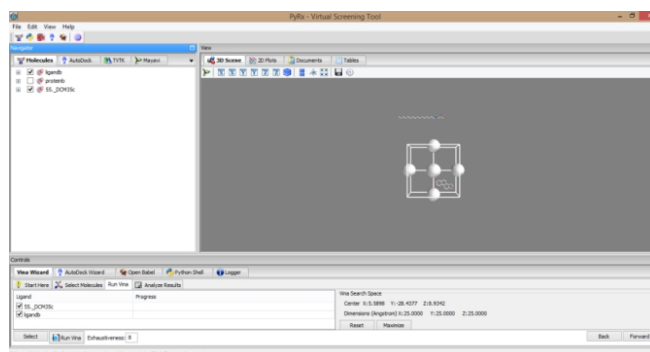
Avogadro mulai dikembangkan mulai tahun 2007 sebagai aplikasi untuk membuat kerangka kerja yang kuat dan fleksibel untuk membangun dan memvisualisasikan struktur molekul. Keunggulan lain yang ditawarkan aplikasi ini adalah selain membentuk struktur kimia secara tiga dimensi, juga dapat dipilih bentukan paling stabil dari struktur tersebut sehingga dapat semakin mempermudah mendapatkan data yang valid ketika senyawa uji ditambahkan pada reseptor target. Salah satu pemanfaatan aplikasi adalah membantu *software* Autodock untuk menemukan struktur geometri paling stabil dari struktur kimia sebelum dilakukan penambahan senyawa terhadap targetnya (Hanwel *et al.*, 2012).



Gambar 2.4. Tampilan Avogadro

2.8.3 AutoDock Vina

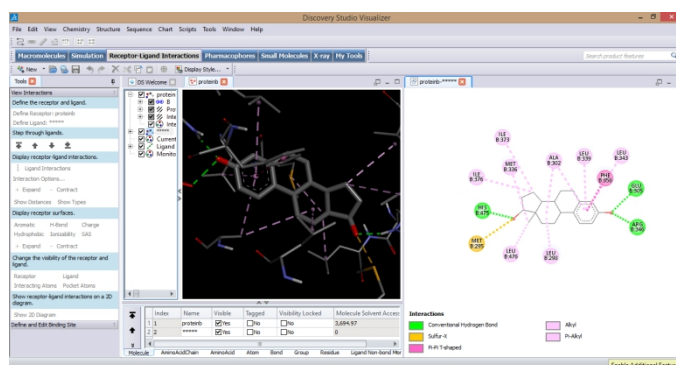
AutoDock Vina merupakan salah satu perangkat lunak yang didapatkan digunakan untuk penambatan molekul dan skrining virtual. Vina memiliki fungsi yang beragam, tingkat kinerja tinggi dan meningkatkan akurasi untuk mempermudah penggunaan (Sandeep *et al.*, 2011). Aplikasi ini dapat memproses penambatan lebih dari satu molekul sekaligus serta meminimalkan ukurannya agar proses *docking* tidak terlalu lama. Penambatan melalui aplikasi ini akan mendapatkan *score docking* dari hasil interaksi suatu molekul ligan dengan reseptor (Troott dan Olson, 2009).



Gambar 2.5. Tampilan Autodockvina saat proses autogrid

2.8.4 Discovery Studio Visualizer

Biovia Discovery Studio Visualizer merupakan perangkat lunak yang dapat digunakan untuk visualisasi struktur molekul agar dapat dilihat gambaran yang interaktif dari struktur tersebut. Perangkat ini menampilkan gambar yang berkualitas tinggi dari hasil visualisasi struktur senyawa. Aplikasi ini dapat digunakan pada Windows dan Linux dan terintegrasi dengan desktop yang menyediakan akses ke fitur sistem operasi standar seperti sistem berkas, *clipboard*, dan percetakan (Accelrys Enterprise Platform, 2005).

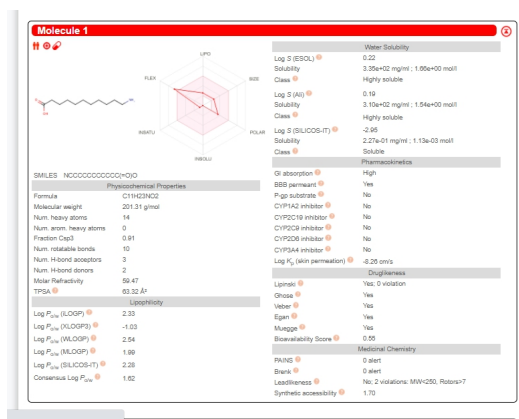


Gambar 2.6. Tampilan Biovia Discovery Studio Visualizer

2.8.5 Webtool SwissADME

SwissADME merupakan salah satu *webtool* yang banyak digunakan. *Webtool* ini dapat diakses secara gratis dan dikenal sebagai *physicochemical descriptor* yang sering digunakan untuk memprediksi aktivitas dari suatu senyawa berdasarkan strukturnya. Keunggulan dari *software* ini dimanfaatkan oleh berbagai kalangan terutama dalam upaya pengembangan obat baru dengan membantu memprediksi aktivitas berdasarkan sifat fisikokimia senyawa bahkan dapat memprediksi sifat dari senyawa tersebut ditinjau dari aspek farmakokinetik maupu farmakodinamikannya.

SwissADME memiliki keunggulan lain yakni mempermudah dalam mempresentasikan hasil prediksi dari banyak senyawa tersebut menggunakan mode *Boiled EGG* dimana tampilan tersebut dapat menggambarkan secara visual sederhana prediksi kemampuan senyawa dalam terabsorbsi hingga dapat menembus BBB permeant (Daina *et al.*, 2017).

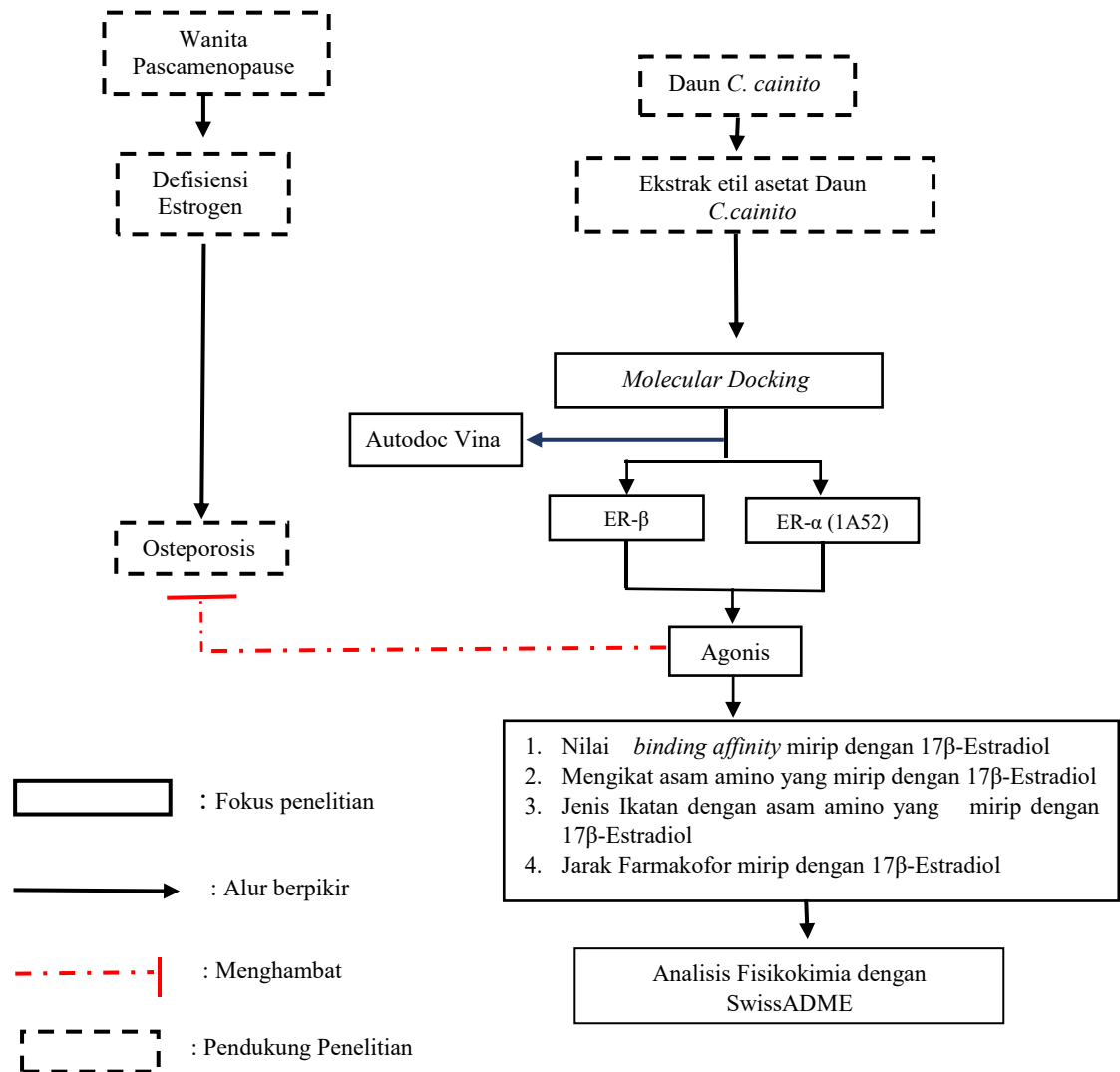


Gambar 2.7. Tampilan *Webtool* SwissADME

BAB III

KERANGKA KONSEPTUAL

3.1 Kerangka Konseptual



Gambar 3.1. Kerangka Konseptual

3.2 Uraian Kerangka Konseptual

Wanita seiring berjalannya waktu akan mengalami penuaan disertai dengan fenomena pascamenopause, masa ini ditandai dengan terjadinya defisiensi estrogen. Hormon estrogen memiliki peran penting dalam regulasi beberapa sistem penting fisiologi wanita. Oleh karenanya, jika kadar estrogen menurun maka dapat menyebabkan timbulnya berbagai masalah kesehatan. Salah satunya ialah osteoporosis. Karena banyaknya efek samping yang timbul dari pengobatan osteoporosis secara klinis, maka dibutuhkan terapi alternatif yang lebih aman.

Fitoestrogen dijadikan sebagai salah satu terapi alternatif untuk pengobatan osteoporosis karena diduga memiliki aktivitas yang mirip dengan hormon estrogen tubuh. Salah satu tumbuhan yang diidentifikasi memiliki kandungan fitoestrogen adalah daun *C. Cainito* (Kenitu). Daun kenitu telah banyak digunakan di berbagai suku untuk mengobati beberapa penyakit. Penelitian sebelumnya yang dilakukan secara *in vivo* menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat daun kenitu dapat meningkatkan kepadatan tulang mencit betina yang diinduksi mengalami osteoporosis.

Penelitian ini berfungsi untuk melanjutkan penelitian sebelumnya di mana daun kenitu terlebih dahulu diekstraksi menggunakan pelarut etil asetat dan dilakukan pemprofilan senyawa (*metabolit profiling*) yang terkandung di dalam daun kenitu. Selanjutnya pada penelitian ini, dilakukan analisis secara *in silico* untuk memprediksi aktivitas antiosteoporosis daun kenitu terhadap protein 1A52 dan 3OLS yang merupakan kode protein dari ER- α dan ER- β .

Studi *in silico* ini menitik beratkan pada proses *molecular docking* antara ligan dengan protein ini kemudian akan menghasilkan ikatan agonis dengan metode AutodockVina. Senyawa yang dikatakan berikatan agonis ialah senyawa yang

memenuhi parameter yang karakteristiknya mirip dengan ligan internalnya, yakni 17β -estradiol. Parameter tersebut ialah hasil *molecular docking* yakni *binding affinity*, jarak farmakofor, jenis asam amino yang diikat, jenis ikatan dan karakteristik fisikokimia. Berdasarkan hal tersebut, maka senyawa-senyawa tersebut dapat diprediksi memiliki aktivitas antiosteoporosis.

3.3 Hipotesis

1. Terdapat senyawa fitoestrogen dalam ekstrak etil asetat daun *C. cainito* yang berikatan agonis dengan protein 1A52 (ER- α)
2. Terdapat senyawa fitoestrogen dalam ekstrak etil asetat daun *C. cainito* yang berikatan agonis dengan protein 3OLS (ER- β)

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1. Jenis dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan rancangan *pre experimental on shot case study* berbasis komputer, yakni studi *in silico* kandungan senyawa fitoestrogen dari ekstrak etil asetat daun *C.cainito* (kenitu) yang berikatan agonis dengan protein 3OLS dan 1A52.

4.2 Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Maret 2021.

4.2. Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah senyawa hasil *metabolit profiling* ekstrak etil asetat daun *C. Cainito* menggunakan UPLC QtoF MS/MS

4.3. Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

4.3.1. Variabel Penelitian

Variabel pada penelitian ini ialah senyawa fitoestrogen yang berpotensi sebagai antiosteoporosis dalam ekstrak etil asetat daun *Chrysophyllum cainito* L yang berikatan agonis terhadap protein 3OLS dan 1A52

4.4.1 Definisi Operasional

No	Variabel	Definisi Operasional	Parameter	Alat Ukur	Hasil Ukur
1	Senyawa fitoestrogen yang berpotensi sebagai antiosteoporosis dalam ekstrak etil asetat daun <i>C. cainito</i> yang berinteraksi agonis terhadap 3OLS dan 1A52	Senyawa fitoestrogen yang berpotensi sebagai antiosteoporosis yang didapatkan dari data hasil metabolit profiling ekstrak etil asetat dan <i>C. cainito</i> menggunakan UPLC Qtof ms/ms secara insilico	<p>Nilai <i>binding affinity</i></p> <p>Pengertian: Kemampuan senyawa untuk berikatan secara stabil dengan protein target 3OLS dan 1A52. Semakin negatif nilai <i>binding affinity</i> menunjukkan afinitas ligan yang semakin tinggi.</p>	PyRx 0.8	Nilai negatif
			<p>Asam amino yang diikat</p> <p>Pengertian: Asam amino yang diikat merupakan asam amino yang ada pada reseptor estrogen dan dapat berikatan dengan ligan yang sesuai, di mana asam amino yang dapat berikatan dengan ligan yang sesuai, yaitu His, Glu dan Arg.</p>	Biovia Discovery Studio Visualizer	His 475 dan Glu 305 atau Arg 346

			<p>Jenis ikatan asam amino yang dihasilkan</p> <p>Pengertian: Jenis ikatan asam amino yang dihasilkan merupakan jenis ikatan yang terjadi saat proses <i>molecular docking</i> antara ligan dengan protein 3OLS dan 1A52, dimana jenis ikatan yang diharapkan adaah ikatan hidrogen.</p>	Biovia Discovery Studio Visualizer	Ikatan hidrogen
			<p>Jarak farmakofor</p> <p>Pengertian: Jarak farmakofor merupakan jarak antara gugus farmakofor dalam suatu struktur senyawa dan ditunjukkan dengan satuan amstrong.</p> <p>Jarak farmakofor antara reseptor dan ligan 17-β estradiol kurang lebih 10 amstrong.</p>	Biovia Discovery Studio Visualizer	Mendekati 10.862 Å
			<p>Nilai TPSA</p> <p>Pengertian:</p>	SwissAD ME	$\leq 140 \text{ Å}^2$

			<p>Nilai TPSA merupakan parameter fisikokimia yang menunjukkan kemampuan senyawa dalam menembus membran dimana senyawa yang memiliki nilai $TPSA \leq 140 \text{ \AA}^2$ maka dapat menembus dinding sel.</p>		
			<p>Hukum 5 lipinski Pengertian: Hukum 5 lipinski merupakan parameter fisikokimia untuk menunjukkan kemampuan suatu senyawa obat dapat diterima tubuh dengan baik saat dikonsumsi secara oral.</p>		<p>$BM \leq 500$ gram/mol. $\log P \leq 5$, $HBD \leq 5$, $HBA \leq 10$</p>

Tabel 4.1. Definisi Operasional

4.5. Alat dan Bahan

4.5.1. Alat Penelitian

Alat penelitian : Laptop Lenovo AMD A8-7410 APU with AMD Radeon R5

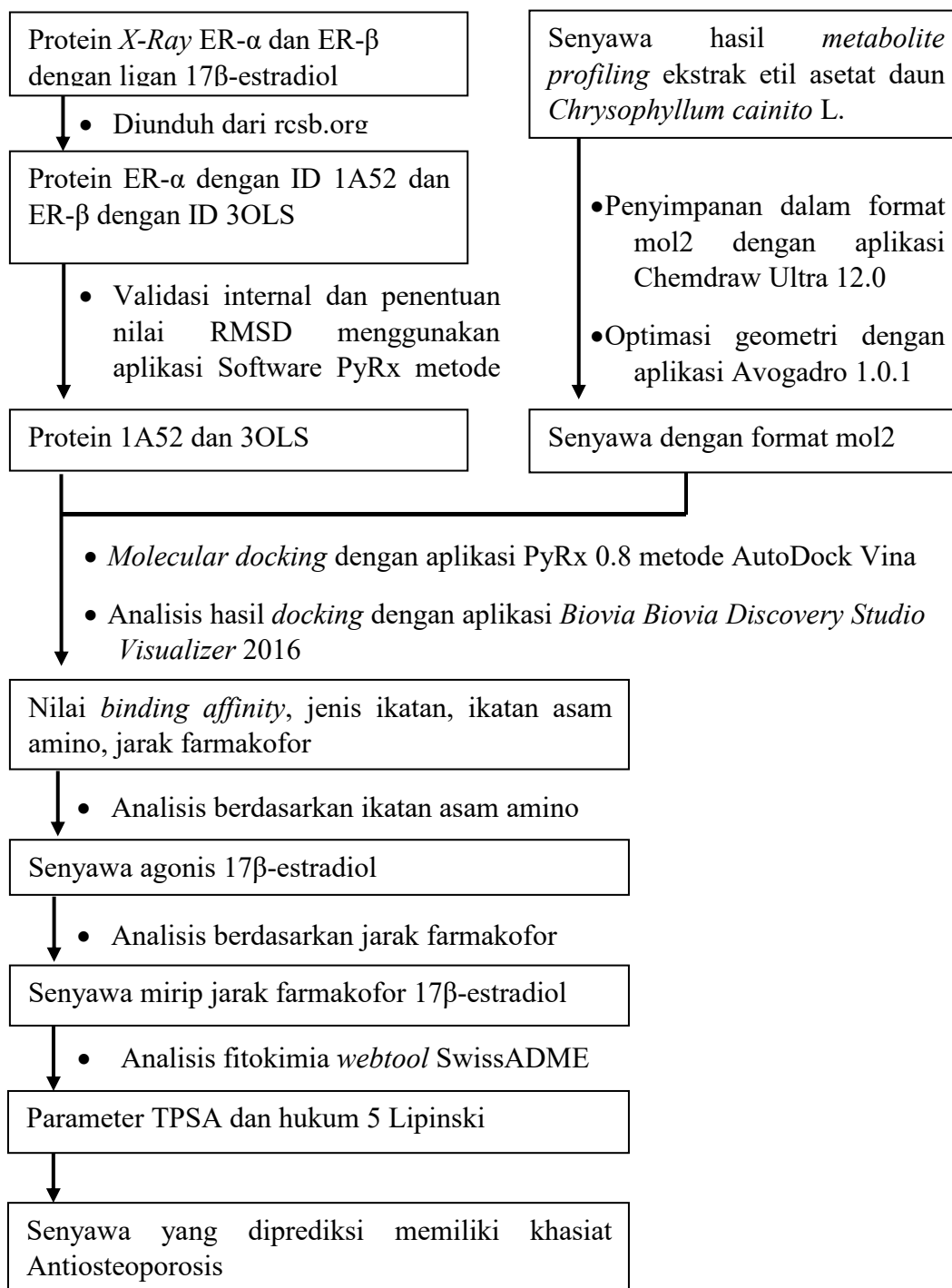
Graphics

1.5.2. Bahan Penelitian

Bahan penelitian terdiri dari :

- Data Metabolit profiling dari ekstrak etil asetat daun *C. cainito*
- Reseptor ER- β dan ER- α dengan ID 3OLS dan 1A52 dari www.rcsb.org

4.6 Skema Penelitian



Gambar 4.1. Skema Penelitian

4.7 Prosedur Penelitian

1. Pengunduhan protein *X-ray* dengan ligand 17 β -estradiol dari *Protein Data Bank*.
2. Pemisahan ligan 17 β -estradiol dengan protein 1A52 dan 3OLS menggunakan *Biovia Biovia Discovery Studio Visualizer* 2016
3. Penyimpanan ligan dan protein yang telah terpisah
4. *Molecular docking* antara ligan internal dengan masing-masing protein (1A52 dan 3OLS) menggunakan PyRx 0.8 metode AutoDock Vina.
5. Analisis hasil *molecular docking* menggunakan *Biovia Biovia Discovery Studio Visualizer* 2016 untuk mendapatkan parameter yang digunakan sebagai pembandingan
6. Penggambaran struktur senyawa hasil *metabolite profiling* menggunakan aplikasi ChemDraw ultra 12.0
7. Penyimpanan struktur yang telah digambar dengan format penyimpanan mol2
8. Optimasi geometri struktur senyawa menggunakan avogadro 1.0.1.
9. Penyimpanan struktur senyawa yang telah dioptimasi dengan format mol2.
10. *Molecular docking* pada senyawa-senyawa yang telah dioptimasi dengan masing-masing protein (1A52 dan 3OLS) menggunakan PyRx 0.8 metode AutoDock Vina.
11. Analisis hasil *molecular docking* menggunakan *Biovia Biovia Discovery Studio Visualizer* 2016.
12. Pemilihan senyawa yang berikatan agonis

13. Analisis fisikokimia pada senyawa yang berikatan agonis menggunakan *webtool* SwissADME untuk mengetahui sifat fisikokimia seperti TPSA dan 5 Lipinski.

BAB V

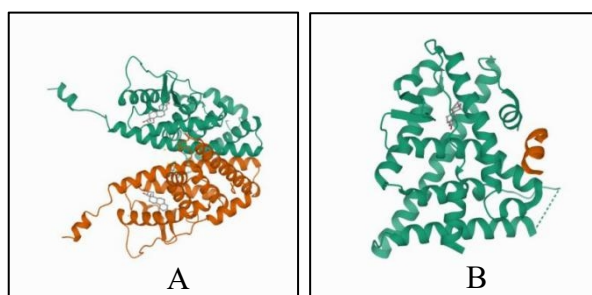
HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Preparasi Sampel

Preparasi sampel menjadi hal yang penting dilakukan dalam sebuah penelitian. Preparasi sampel secara *in silico* bertujuan untuk menyiapkan sampel sebelum diuji, dengan memenuhi persyaratan yang sesuai untuk mendapatkan kelayakan untuk pengujian. Pada penelitian ini, preparasi dilakukan terhadap protein target dan senyawa hasil *metabolite profiling* ekstrak etil asetat daun *C. cainito*.

5.1.1 Preparasi Protein Target

Preparasi sampel yang pertama dilakukan ialah preparasi terhadap protein target yakni *Estrogen Receptor- α* dan *Estrogen Receptor- β* dengan ligan internal 17 β -estradiol. Preparasi dilakukan dengan cara melakukan pengunduhan protein target terlebih dahulu dari *Protein Data Bank* www.rcsb.org. Protein yang dipilih ialah protein *X-ray* dengan kode 1A52 untuk *Estrogen Receptor- α* dan protein *X-ray* dengan kode 3OLS untuk *Estrogen Receptor- β* seperti pada gambar 5.1.



Gambar 5.1. Protein (A) 1A52, dan (B) 3OLS dengan ligan 17 β -estradiol

Protein yang mengikat ligan internal 17 β -estradiol dipilih karena ligan ini merupakan bentuk alami dari estrogen yang paling poten di dalam tubuh (Ma'arif,

dkk. 2019). Sehingga, ligan tersebut dijadikan sebagai parameter pembandingan untuk senyawa-senyawa sampel yang mengacu pada kemiripan parameter setelah dilakukan proses *molecular docking*. Protein yang telah diunduh kemudian dipreparasi menggunakan aplikasi *Biovia Discovery Studio Visualizer* 2016 yang bertujuan untuk memisahkan antara ligan internal dengan proteinnya dan mempersiapkan protein target yang akan dilakukan penambatan (Muchtaridi *et al.*, 2018).

Setelah dilakukan pemisahan ligan dengan reseptornya, dilakukan validasi internal menggunakan aplikasi AutoDock Vina. Validasi internal digunakan untuk mengetahui nilai *Root Mean Square Deviation* (RMSD) antara ligan dengan protein. Nilai RMSD merupakan parameter yang digunakan untuk mengevaluasi apakah aplikasi *docking* yang digunakan sudah sesuai atau tidak, serta menggambarkan seberapa besar perubahan konformasi ligan alami sebelum dan sesudah validasi dilakukan (Muttaqin *et al.*, 2019). Hasil validasi internal dapat diamati pada tabel 5.1.

Tabel 5.1. Nilai RMSD dari proses validasi internal AutoDock Vina

Jenis Protein Target	Binding Affinity (kkal/mol)	RMSD/ Upper (Å)	RMSD/ Lower (Å)	Rata-rata RMSD (Å)
Protein 1A52	-10.7	0	0	0.000
	-9.3	2.686	1.055	1.871
	-8.1	1.160	1.101	1.132
	Rata Rata RMSD AutoDock Vina			1.501
Protein 3OLS	-10.5	0	0	0.000
	-8.7	2.679	1.233	1.956
	-7.9	2.531	1.204	1.868
	Rata Rata RMSD AutoDock Vina			1.274

Berdasarkan hasil validasi internal pada tabel 5.1 di atas, didapatkan hasil rata-rata nilai RMSD pada protein target 1A52 sebesar 1.501 dan pada protein target 3OLS sebesar 1.274. Hasil dari validasi internal tersebut membuktikan bahwa aplikasi AutoDock Vina dapat digunakan dalam analisis proses *molecular docking* terhadap protein 1A52 dan 3OLS karena nilai rata-rata RMSD pada kedua protein tersebut $< 2 \text{ \AA}$ (Muchtaridi et al., 2018). Semakin kecil nilai RMSD, maka semakin baik aplikasi tersebut digunakan untuk proses *molecular docking* (Noviardi dan Fachrurrazie, 2015).

5.1.2 Preparasi Senyawa Hasil *Metabolite Profiling*

Senyawa hasil *metabolite profiling* ekstrak etil asetat digunakan sebagai senyawa kandidat yang akan diprediksi aktivitas antiosteoporosisnya. Berdasarkan hasil *metabolite profiling* ekstrak etil asetat daun *C. cainito*, diperoleh hasil sebanyak 26 senyawa yang terkandung dalam ekstrak etil asetat daun *C. cainito*. Setiap senyawa hasil dari *metabolite profiling* dilakukan preparasi awal menggunakan aplikasi ChemDraw Ultra 12.0 untuk menggambarkan struktur dari senyawa-senyawa tersebut. Aplikasi Chem Draw digunakan karena mampu menggambarkan struktur 2 dimensi hanya dengan memasukkan nama senyawa yang dibutuhkan, aplikasi ini juga memiliki database yang lengkap, dilengkapi dengan peringatan jika terjadi kesalahan dalam pembuatan struktur kimia dan juga dapat memunculkan kode SMILES setiap senyawa yang berfungsi untuk analisis fisikokimia (Agustina, 2018; Cousin, 2011; Erickson et al., 2020). Kode SMILES merupakan konversi senyawa kimia dalam bentuk notasi baris yang memudahkan klasifikasi senyawa menggunakan sistem komputerisasi (Witanto, dkk., 2019).

Tabel 5.2. Kode SMILES senyawa hasil *metabolite profiling* ekstrak etil asetat

NO	Nama Senyawa	Kode SMILES
1.	(Chlorosulfanyl)cyclohexane	<chem>ClSC1CCCCC1</chem>
2.	11-Aminoundecanoic acid	<chem>O=C(O)CCCCCCCCCN</chem>
3.	Dibutyl phthalate	<chem>O=C(O)CCCCCCCCCN</chem>
4.	N-(3-Oxododecanoyl)-L-homoserine	<chem>OCC[C@@H](C(O)=O)NC(CC(CCCCCCCC)=O)=O</chem>
5.	Circumdatin E	<chem>O=C1N2C(CCC2)C(N3C4=CC=CC=C14)=NC5=C(C=C(OC)C=C5O)C3=O</chem>
6.	3,3',3''-Phosphorothioyltris[1-(2-methyl-2-propenyl)-1H-pyrrole]	<chem>S=P(C1=CN(C(C)(C)C)C=C1)(C2=CN(C(C)(C)C)C=C2)C3=CN(C(C)(C)C)C=C3</chem>
7.	Loliolide	<chem>O=C1O[C@@](C[C@@H](O)CC2(C)C)(C)C2=C1</chem>
8.	Polygodial	<chem>O=C[C@H]1C(C=O)=CC[C@@]2([H])C(C)(C)CCC[C@]12C</chem>
9.	2,2'-(Tridecylimino)diethanol	<chem>CCCCCCCCCCCCCN(CCO)CCO</chem>
10.	Eusiderin	<chem>COC1=C(OC)C(OC)=CC([C@H]2OC3=CC(CC=C)=CC(OC)=C3O[C@@H]2C)=C1</chem>
11.	Portentol	<chem>O=C1O[C@]2([H])[C@H](C)[C@@]3([C@H](C)[C@H](O)[C@H](C)[C@@H](C)O3)[C@@]1(C)C([C@@H]2C)=O</chem>
12.	Cetylamine	<chem>CCCCCCCCCCCCCCCN</chem>
13.	2-Amino-3-(hexadecyloxy)-1-propanol	<chem>OCC(N)COCCCCCCCCCCCCCCC</chem>
14.	Bolandiol	<chem>O[C@H]1CC[C@]2([H])[C@@]3([H])CC[C@]4(C)[C@@H](O)CC[C@@]4([H])[C@]3([H])CCC2=C1</chem>
15.	N-(2-Hydroxyethyl)-N-(2-hydroxyoctadecyl)-β-alanine	<chem>CCCCCCCCCCCCCCCC(O)CN(CCO)CCC(O)=O</chem>
16.	2,2-Dinitro-1-propanol	<chem>CC([N+])([O-])=O([N+])([O-])=O)CO</chem>

NO	Nama Senyawa	Kode SMILES
17.	Nitromethanesulfinic Acid	<chem>O=S(C[N+])([O-])=O</chem>
18.	2-Methoxy-N-[2-(1-piperidinylsulfonyl)ethyl]ethanesulfonamide	<chem>COCCS(=O)(NCCS(=O)(N1CCCCC1)=O)=O</chem>
19.	1-[2-(Dimethylamino)ethyl]-3-[3-(dimethylamino)propyl]-1-[(7,8-dimethyl-2-oxo-1,2-dihydro-3-quinolinyl)methyl]thiourea	<chem>S=C(NCCCN(C)C)N(CCN(C)C)CC1=CC2=C(NC1=O)C(C)=C(C)C=C2</chem>
20.	Metaxalone	<chem>O=C1OC(COC2=CC(C)=CC(C)=C2)CN1</chem>
21.	Broussonetine B	<chem>O=C(CCCCCCCC[C@H]1N[C@H](CO)[C@H](O)[C@@H]1O)CCCCO</chem>
22.	Diethyltoluamide	<chem>O=C(N(CC)CC)C1=CC=CC(C)=C1</chem>
23.	Gingerol	<chem>CCCC[C@H](O)CC(CCC1=CC=C(O)C(OC)=C1)=O</chem>
24.	Lintopride	<chem>O=C(NCC1=NCCN1CC)C2=CC(CI)=C(N)C=C2OC</chem>
25.	Nandrolone	<chem>O=C1CC[C@H]2C(CC[C@@H]3[C@@H]2CC[C@@]4(C)[C@H]3CC[C@@H]4O)=C1</chem>
26.	Licocoumarone	<chem>OC1=CC=C(C2=CC3=C(OC)C(C/C=C(C)\C)=C(O)C=C3O2)C(O)=C1</chem>

Struktur senyawa yang telah digambar pada ChemDraw Ultra 12.0 kemudian dilakukan optimasi geometri menggunakan aplikasi Avogadro 1.0.1. Optimasi geometri dilakukan untuk menemukan struktur paling stabil dari struktur kimia sebelum dilakukan penambatan senyawa terhadap targetnya (Hanwel *et al.*, 2012). Optimasi geometri struktur dilakukan menggunakan aplikasi Avogadro 1.0.1 dengan metode MMFF94 untuk mendapatkan struktur senyawa 3 dimensi yang paling baik ketika nantinya dilakukan penambatan dengan reseptor target.

5.2. *Molecular Docking*

Uji *in silico* dilakukan dengan *Molecular docking* (penambatan molekular). *Molecular docking* adalah pemodelan komputasi yang digunakan untuk memprediksi interaksi yang dibentuk oleh dua atau lebih molekul yang berinteraksi. Hasil penambatan sendiri, hanya menghasilkan kandidat struktur yang paling memungkinkan atau mirip dengan struktur aslinya. *Molecular docking* sering digunakan untuk memprediksi orientasi pengikatan kandidat senyawa obat dengan target protein, dengan memprediksi afinitas dan aktivitas molekul. Dalam banyak aplikasi penemuan obat, penambatan dilakukan antara molekul kecil dan makromolekul, misalnya penambatan protein dengan ligan (Martínez, *et al.* 2018).

Molecular docking dilakukan menggunakan aplikasi PyRx 0.8 dengan metode AutoDock Vina, metode ini digunakan karena memiliki keunggulan dalam melakukan penambatan yaitu dapat memberikan hasil penambatan mulai terbaik hingga terburuk secara tepat dan cepat (Trott dan Olson, 2010). Tahapan dari *molecular docking* ialah, senyawa yang telah dipreparasi kemudian ditambatkan dengan protein target 1A52 dan 3OLS. Hasil dari penambatan ini selanjutnya dianalisis menggunakan aplikasi *Biovia Discovery Studio Visualizer* 2016 dengan membandingkan kemiripan parameter yang dihasilkan senyawa hasil *metabolite profiling* dengan ligan internal. Pengamatan hasil *molecular docking* terfokus pada interaksi agonis, dengan menganalisis beberapa parameter, yaitu asam amino yang diikat, jenis ikatan, jarak farmokofor, dan *binding affinity*.

5.2.1 Hasil *Molecular Docking* terhadap Protein 1A52

Parameter ligan internal pada protein 1A52 dapat dilihat pada tabel 5.3. Hasil parameter ligan internal ini, dijadikan sebagai acuan dalam menentukan senyawa yang agonis. Hasil *molecular docking* senyawa hasil ekstrak etil asetat daun kenitu

yang agonis terhadap protein 1A52 dapat dilihat pada tabel 5.4. Hasil *molecular docking* seluruh senyawa ekstrak etil asetat daun kenitu terhadap protein 1A52.

Tabel 5.3. Nilai paramater *ligan internal* terhadap protein 1A52

Nama Senyawa	<i>Binding Affinity</i> (kkal/mol)	Rmsd Average (Å)	Interaksi	Asam amino(Jenis Ikatan)	Jarak Farmokofor (Å)
17 β -estradiol	-10.7	0.000	Agonis	His524(Hidrogen) Glu 353(Hidrogen) Arg394(Hidrogen)	11.119

Tabel 5.4. Hasil *molecular docking* terhadap protein 1A52

No.	Nama Senyawa	<i>Binding Affinity</i> (kkal/mol)	Rmsd Average (Å)	Interaksi	Asam amino(Jenis Ikatan)	Jarak Farmokofor (Å)
1.	11-Aminoundecanoic acid	-5.2	2.456	Agonis	His524(Hidrogen) Glu353(Hidrogen)	10.438
2.	N-(3-Oxododecanoyl)-L-homoserine	-3.9	4.356	Agonis	His524(Alkyl) Arg394(Hidrogen)	10.349
3.	2,2'-(Tridecylimino) diethanol	-5.1	4.579	Agonis	His524(Pi-Sigma) Glu353(Hidrogen)	10.562
4.	Bolandirol	-9.5	1.871	Agonis	His524(Hidrogen) Glu353(Hidrogen)	10.980
5.	2-Methoxy-N-[2-(1-piperidinylsulfonyl)ethyl]ethanesulfonamide	-5.2	4.078	Agonis	His524(Alkyl) Glu353(Carbon)	9.389
7.	Metaxalone	-6.2	4.884	Agonis	His524(Alkyl) Arg394(Hidrogen)	10.349

No .	Nama Senyawa	<i>Binding Affinity</i> (kkal/mol)	Rmsd Average (Å)	Interaksi	Asam amino(Jenis Ikatan)	Jarak Farmokofor (Å)
8.	Licoumarone	5.4	0.000	Agonis	His524(Unfavorable) Glu353(Hidrogen) Arg394(Hidrogen)	12.989
9.	Lintopride	-6.6	0.000	Agonis	His524(Alkyl) Glu353(Hidrogen)	9.112
10.	Nandrolone	-9.9	0.000	Agonis	His524(Hidrogen) Arg394(Hidrogen)	10.992

5.2.2 Hasil *Molecular Docking* terhadap Protein 3OLS

Parameter ligan internal pada protein 3OLS dapat dilihat pada tabel 5.5 dan hasil *molecular docking* senyawa hasil *metabolite profiling* ekstrak etil asetat dapat dilihat pada tabel 5.6.

Tabel 5.5. Nilai paramater *ligan internal* terhadap protein 3OLS

Nama Senyawa	<i>Binding Affinity</i> (kkal/mol)	Rmsd Average (Å)	Interaksi	Asam amino(Jenis Ikatan)	Jarak Farmokofor (Å)
17 β -estradiol	-10.5	0.000	Agonis	His475(Hidrogen) Glu305(Hidrogen) Arg346(Hidrogen)	10.862

Tabel 5.6. Hasil *molecular docking* terhadap protein 3OLS

No	Nama Senyawa	<i>Binding Affinity</i> (kkal/mol)	Rmsd Average (Å)	Interaksi	Asam amino(Jenis Ikatan)	Jarak Farmokofor (Å)
1.	11-Aminoundecanoic acid	-5.5	2.350	Agonis	His475(Hidrogen) Glu305(Hidrogen) Arg346(Unfavorable)	10.462
2.	2,2'-(Tridecylimino) diethanol	-5.3	1.795	Agonis	His475(Alkyl) Arg346(Unfavorable)	10.401
3.	Cetylamine	-5.8	0.000	Agonis	His475(Alkyl) Glu305(Hidrogen)	9.060
4.	Bolandirol	-9.8	1.871	Agonis	His475(Hidrogen) Glu305(Hidrogen)	10.981
5.	N-(2-Hydroxyethyl)-N-(2-hydroxyoctadecyl)-β-alanine	-0.3	3.938	Agonis	His475(Pi-Sigma) Glu305(Hidrogen)	9.064
6.	2-Methoxy-N-[2-(1-piperidinylsulfonyl)ethyl-3-]ethanesulfonamide	-6.0	3.821	Agonis	His475(Hidrogen) Glu305(Carbon)	8.622
7.	Metaxalone	-6.8	4.669	Agonis	His475(Alkyl) Arg346(Hidrogen)	10.107
8.	Nandrolone	-9.1	1.880	Agonis	His475(Hidrogen) Glu305(Unfavorable) Arg346(Hidrogen)	10.920

5.3 Analisis Hasil *Molecular Docking* terhadap Protein 1A52 dan 3OLS

Berdasarkan tabel 5.4 dan 5.6 di atas dapat dilihat bahwa dari 26 senyawa hasil *metabolite profiling* ekstrak etil asetat, terdapat 10 senyawa yang bersifat agonis terhadap protein 1A52 dan terdapat 8 senyawa yang bersifat agonis terhadap protein 3OLS. Interaksi agonis yang diprediksikan dilihat dari kemiripan parameter yang terpenuhi dari senyawa hasil *metabolite profiling* terhadap ligan internal 17β -estradiol. Parameter tersebut ialah : nilai *binding affinity* bernilai negatif, asam amino yang diikat ialah His 475 dan Glu 305 atau Arg 346, jarak farmakofor mendekati 11.119 Å untuk 1A52 dan 10.862 Å untuk 3OLS , nilai $TPSA \leq 140 \text{ Å}^2$ dan senyawa memenuhi hukum 5 lipinski yakni $BM \leq 500 \text{ gram/mol}$. $\text{Log } P \leq 5$, $HBD \leq 5$, $HBA \leq 10$. Interaksi agonis lebih dipilih karena dalam penambatan dibutuhkan senyawa yang memiliki aktivitas serupa dengan ligan internal yaitu fitoestrogen sebagai pengganti estrogen untuk berikatan dengan reseptor dan dapat bertindak sebagai agen antiosteoporosis (Siswandono dan Soekardjo, 1995).

Prediksi aktivitas antiosteoporosis dari hasil *metabolite profiling* ekstrak etil asetat dilakukan dengan menganalisis beberapa parameter. Parameter pertama yang dilihat adalah, asam amino yang diikat antara ligan dan reseptor target. Pada ligan internal, jenis asam amino yang diikat terhadap protein 1A52 dan 3OLS adalah Histidin (His), Glutamin (Glu) dan Arginin (Arg). Jenis asam amino yang diikat, dijadikan salah satu parameter penting karena dapat menggambarkan kesamaan aktivitas antara kandidat senyawa dengan ligan internal.

Parameter kedua yang dianalisis adalah Ikatan asam amino. Ikatan asam amino sangat berpengaruh terhadap kestabilan dari ikatan. Aktivitas agonis yang kuat pada reseptor estrogen terjadi apabila jenis ikatan asam aminonya ialah ikatan hidrogen. Ikatan hidrogen dipilih karena beberapa alasan, di antaranya ialah karena

ligan internal mengikat ikatan hidrogen. Selain itu, ikatan hidrogen dapat meningkatkan interaksi antara reseptor dengan ligan ketika ikatan hidrogen donor dan akseptor memiliki kemampuan yang secara signifikan lebih kuat atau lebih lemah daripada atom hidrogen dan oksigen di dalam air (Chen *et al*, 2016). Di dalam penelitian ini, senyawa dikategorikan memiliki sifat agonis yang cukup kuat apabila memiliki ikatan hidrogen. Senyawa lain yang dikategorikan memiliki sifat agonis karena mengikat jenis asam amino yang sama dengan ligan internal namun tidak mengikat ikatan hidrogen, tetap memiliki potensi estrogeni namun tidak seperti senyawa yang memiliki ikatan hidrogen. Hal ini disebabkan karena ikatan antara ligan dengan protein pada senyawa estrogen akan lebih stabil jika mengikat ikatan hidrogen, sehingga dapat memberikan aktivitas farmakologi yang lebih baik.

Jarak farmakofor menjadi parameter selanjutnya yang berfungsi untuk menunjukkan jarak minimum yang dibutuhkan oleh atom-atom molekul untuk berikatan dengan reseptor dan menghasilkan aktivitas. Pentingnya pemetaan jarak farmakofor dikarenakan bahwa setelah jarak farmakofor ligan internal pada suatu reseptor teridentifikasi, maka dapat digunakan sebagai acuan untuk menentukan ligan atau senyawa lain dengan efek farmakologis yang sama (Ghatol *et al.*, 2010). Pada penelitian ini, jarak farmakofor yang dijadikan acuan ialah jarak farmakofor yang dihasilkan oleh ligan internal terhadap protein 1A52 yakni sebesar 11.119 Å dan terhadap protein 3OLS yakni sebesar 10.862 Å. Beberapa senyawa agonis pada penelitian ini, menunjukkan kemiripan jarak farmakofor dengan kedua protein. Namun, terdapat pula beberapa senyawa agonis yang memiliki nilai jarak farmakofor yang cukup jauh dengan ligan internal. Senyawa-senyawa tersebut, tetap dikatakan bersifat agonis karena telah mengikat asam amino yang sama dengan ligan internal, namun memiliki potensi yang berbeda dalam memberikan aktivitas farmakologi.

Jarak farmakofor yang dihasilkan oleh gugus farmakofor berperan untuk memastikan interaksi yang optimal antara ligan dan protein dengan target biologis tertentu untuk memicu respon biologis atau memberikan aktivitas. Oleh karena itu, semakin mirip jarak farmakofor dengan ligan aslinya maka semakin optimal aktivitas yang dihasilkan (Qing *et al*, 2014).

Parameter terakhir yang dianalisis adalah nilai *binding affinity*. *Binding affinity* merupakan kemampuan senyawa untuk dapat berikatan dengan protein target dengan memberikan energi bebas paling stabil (Kastritis, 2012). *Binding affinity* digunakan untuk menggambarkan energi pada ikatan kompleks suatu senyawa dengan reseptor, semakin kecil nilai *binding affinity* menunjukkan semakin stabil konformasi senyawa dengan reseptor. Sehingga dapat disimpulkan bahwa semakin kecil nilai *binding affinity* maka semakin kecil energi yang dibutuhkan untuk berikatan (Harish *et al.*, 2013; Kastritis, 2012; Siswandono, 1995).

Berdasarkan analisis parameter dan hasil yang diperoleh, maka hasil dari *molecular docking* senyawa hasil *metabolite profiling* ekstrak etil asetat ialah yaitu terdapat 10 senyawa yang diprediksi agonis terhadap protein 1A52 dan 8 senyawa yang diprediksi agonis terhadap protein 3OLS. Berdasarkan hasil senyawa yang diprediksi agonis terhadap protein 1A52 dan 3OLS terdapat satu senyawa yang diprediksi memiliki potensi paling tinggi sebagai antiosteoporosis, yaitu senyawa bolandiol.

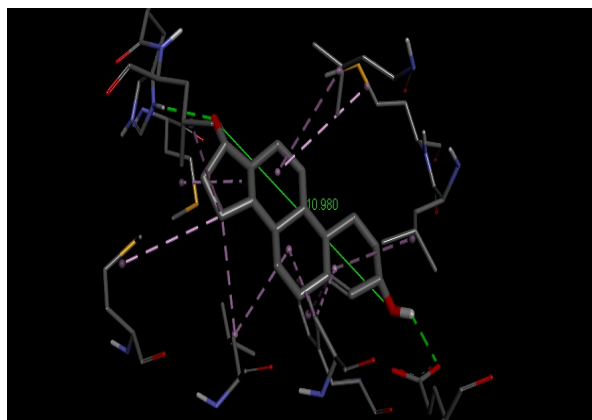
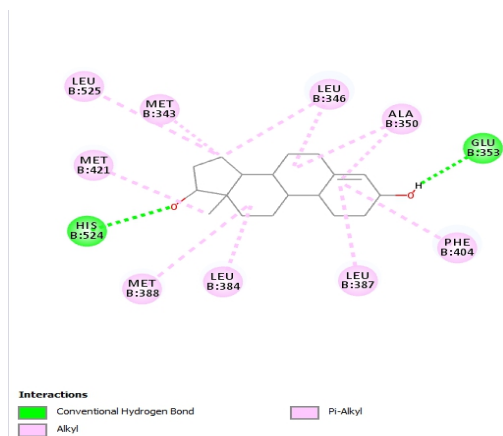
Bolandiol adalah steroid anabolik sintesis dengan aktivitas androgenik, estrogenik dan progestasional yang menunjukkan aktivitas anabolik di sejumlah jaringan termasuk otot, tulang, prostat dan folikel rambut (Atradi *et al* 2010). Senyawa ini diprediksi memiliki aktivitas estrogenik (Ma'arif, 2019) dan berpotensi

tinggi sebagai antiosteoporosis karena bersifat agonis terhadap protein 1A52 dan 3OLS serta memiliki nilai parameter sangat mirip dengan ligan internal. Senyawa bolandiol mengikat asam amino yang sama dengan ligan internal, yakni His524 dan Glu353. Selain itu, jarak farmakofor yang dihasilkan memiliki nilai yang dekat pula dengan ligan internal, yakni 10.980 pada 1A52 (jarak farmakofor 11.119) dan 10.981 pada 3OLS (jarak farmakofor 10.862). Semakin mirip jenis asam amino yang diikat dan semakin dekat jarak farmakofor yang dihasilkan oleh senyawa yang didocking dengan ligan internal maka akan memiliki efek farmakologis yang sama (Ghatol *et al.*, 2010). Hasil *molecular docking* dapat dilihat pada gambar 5.2.

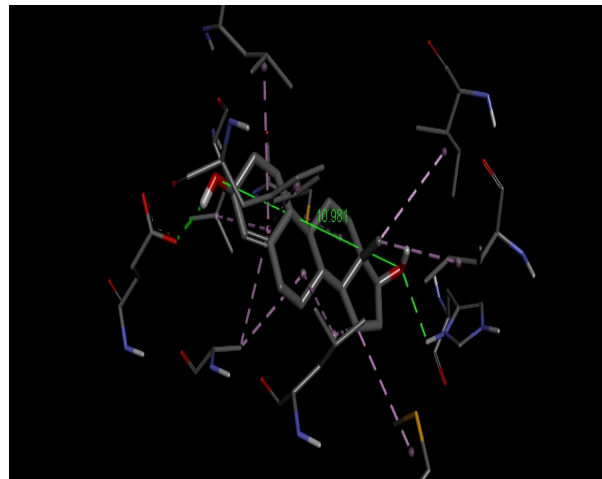
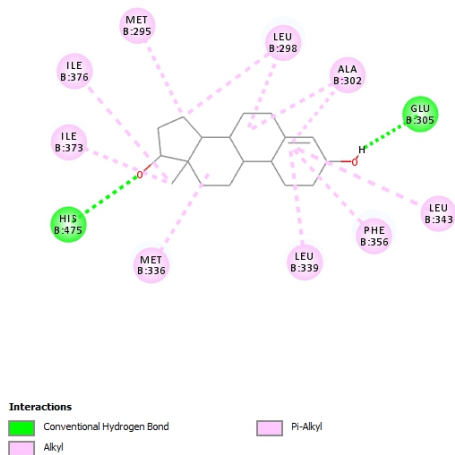
Sebuah penelitian secara *in vivo* yang dilakukan oleh Attradi *et al* 2010, yang membandingkan bolandiol dengan estrogen reseptor (ER) dalam meningkatkan perkembangan sistem reproduksi mencit betina remaja secara *in vivo*, menunjukkan bahwa bolandiol memiliki aktivitas yang hampir mirip dengan estrogen dalam menstimulasi sistem reproduksi mencit betina remaja untuk berkembang. Bolandiol yang termasuk ke dalam golongan senyawa anabolik sintesis yang didominasi dengan aktivitas androgenik, dapat berikatan dengan reseptor estrogen secara tidak langsung dengan jalur aromatis. Ikatan yang terjadi ini, menyebabkan teraktifasinya reseptor estrogen sehingga dapat menimbulkan aktivitas-aktivitas estrogenik. Salah satu aktivitas yang diberikan ialah peningkatan mass tulang, khususnya pada wanita yang mengalami osteoporosis. Studi seluler menunjukkan bahwa senyawa anabolik seperti bolandiol dapat merangsang proliferasi preosteoblas dan diferensiasi osteoblas. Estrogen yang dikonversi kemudian menekan pembentukan osteoklas dan aktivitas resorpsi (Mohammad *et al*, 2016).

Hasil agonis senyawa bolandiol dengan kedua protein (1A52 dan 3OLS) pada penelitian ini, diduga karena terjadinya ikatan bolandiol yang diduga sebagai senyawa

fitoestrogen pada ER- β dan ER- α yang terdapat pada tulang, ikatan ini terjadi karena kemiripan struktur bolandiol dengan estrogen. Ikatan yang dihasilkan akan mempengaruhi massa tulang melalui hambatan aktivitas osteoklas dan peningkatan aktivitas osteoblas, sehingga terjadi peningkatan massa tulang (Baziad, 2003).



(A)



(B)

Gambar 5.2. Hasil *molecular docking* senyawa bolandiol dengan protein (A) 1A52; (B) 3OLS

5.4. Analisis Fisikokimia

Tahap terakhir dari penelitian ini ialah, analisis fisikokimia. Analisis fisikokimia dilakukan terhadap senyawa hasil dari proses *molecular docking* yang memiliki ikatan agonis terhadap protein 1A52 dan 3OLS. Analisis fisikokimia dilakukan menggunakan *webtool* SwissADME dengan cara memasukkan kode SMILES setiap senyawa pada *webtool*. *Webtool* ini dipilih karena dapat memprediksi tidak hanya aktivitasnya berdasarkan sifat fisikokimia bahkan dapat memprediksi sifat dari senyawa tersebut ditinjau dari aspek farmakokinetik maupun farmakodinamikanya (Daina *et al.*, 2016).

Analisis fisikokimia dengan melihat nilai TPSA (*Topological Polar Surface Area*). TPSA merupakan besaran nilai yang menjelaskan kemampuan yang dimiliki suatu senyawa untuk dapat menembus membran (Kelder *et al.*, 1999; Martin, 2005). Nilai TPSA senyawa yang dibutuhkan untuk memenuhi kriteria yaitu $\leq 140 \text{ \AA}^2$. Apabila senyawa memenuhi kriteria nilai TPSA maka dapat dinyatakan bahwa senyawa tersebut dapat menembus membran sel tubuh (Chagas *et al.*, 2018).

Analisis fisikokimia selanjutnya yaitu hukum 5 Lipinski. Hukum ini memprediksi kemiripan senyawa dengan aktivitas biologis tertentu yang dirancang untuk pemberian dengan rute oral (Daina *et al.*, 2016). Hukum ini memiliki 4 parameter yang apabila memenuhi parameter tersebut maka senyawa itu dapat diabsorpsi dengan baik oleh tubuh secara oral (Lipinski, 2001). Parameter tersebut adalah: (1) berat molekul $\leq 500 \text{ g/mol}$, suatu senyawa yang memiliki berat molekul lebih dari 500 g/mol tidak dapat berdifusi menembus membran sel dengan baik. (2) $\log P \leq 5$, nilai log P yang semakin besar, maka semakin hidrofobik molekul tersebut. Molekul yang memiliki sifat terlalu hidrofobik cenderung memiliki tingkat toksisitas

yang tinggi karena akan tertahan lebih lama pada lipid bilayer. (3) $HBD \leq 5$, dan (4) $HBA \leq 10$, jumlah donor dan akseptor ikatan hidrogen mendeskripsikan semakin tinggi kapasitas ikatan hidrogen, maka semakin tinggi energi yang dibutuhkan agar proses absorpsi dapat terjadi (Lipinski, 2001; Rachmania, dkk., 2018).

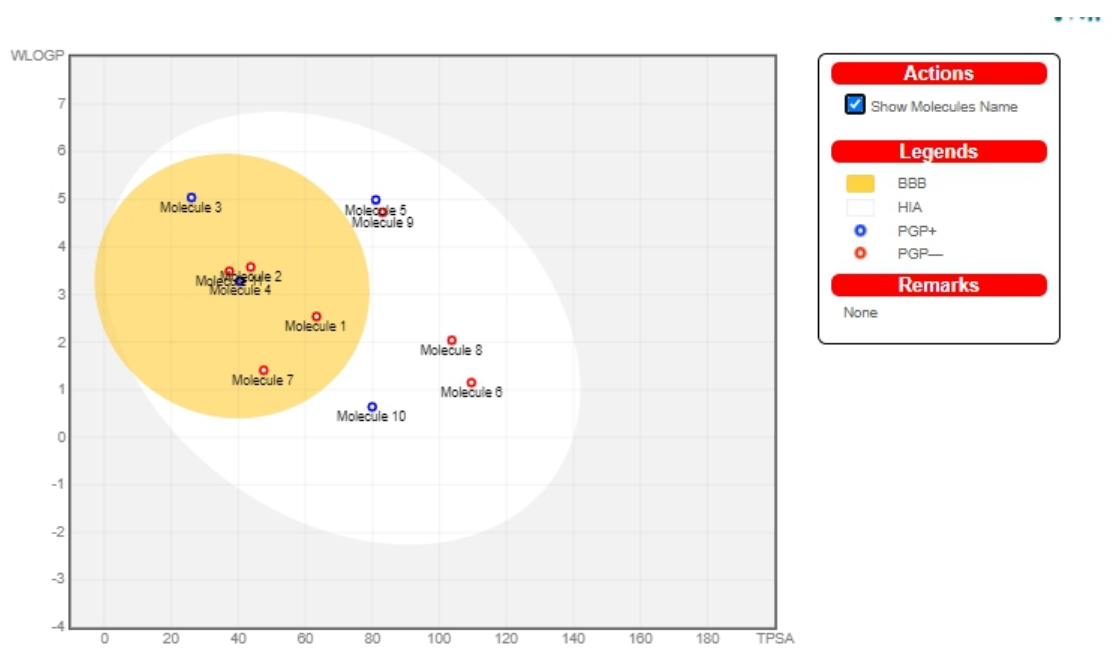
Tabel 5.7. Hasil analisis fisikokimia senyawa agonis

No	Nama Senyawa	TPS A ≤ 140	Lipinski				
			BM (g/mol) ≤ 500	LOGP ≤ 5	H-bond acceptors ≤ 10	H-bond donors ≤ 5	"yes" or "No"
1.	11-Aminoundecanoic acid	63.32	201.31	1.99	3	2	yes
2.	N-(3-Oxododecanoyl)-L-homoserine	103.7	359.91	2.25	3	2	yes
3.	2,2'-(Tridecylimino)diethanol	43.7	273.45	2.65	3	2	yes
4.	Bolandioli	40.46	340.39	-1.66	8	3	yes
5.	N-(2-Hydroxyethyl)-N-(2-hydroxyoctadecyl)- β -alanine	81.00	301.51	3.13	3	3	yes
6.	2-Methoxy-N-[2-(1-piperidinylsulfonyl)ethyl]ethanesulfonamide	109.54	329.56	3.59	3	2	yes
7.	Metaxalone	47.56	301.38	0.18	6	3	yes
8.	Licocoumarone	83.06	241.46	4.45	1	1	yes
9.	Lintopride	79.95	474.58	0.27	8	1	yes
10.	Nandrolone	26.02	329.56	3.59	3	2	yes
11.	Cetylamine	37.3	273.45	2.65	3	2	yes

Tabel 5.7 di atas menunjukkan bahwa terdapat 11 senyawa yakni *11-Aminoundecanoic acid, N-(3-Oxododecanoyl)-L-homoserine, 2,2'-(Tridecylimino)diethanol, Bolandioli, N-(2-Hydroxyethyl)-N-(2-hydroxyoctadecyl)- β -alanine, 2-Methoxy-N-[2-(1-piperidinylsulfonyl)ethyl]ethanesulfonamide, Metaxalone, Licocoumarone, Lintopride, Nandrolone dan Cetylamine* yang diprediksi agonis terhadap protein 1A52 dan 3OLS yang memiliki sifat fisikokimia yang dapat diterima oleh tubuh. Hal ini

dapat dilihat dari nilai TPSA yang memenuhi syarat yaitu $\leq 140 \text{ \AA}^2$ dan hukum 5 Lipinski yang menyatakan “yes”. Senyawa yang telah diprediksikan agonis terhadap protein 1A52 dan 3OLS serta memiliki sifat fisikokimia yang memenuhi syarat, maka dapat diprediksi bahwa senyawa tersebut termasuk ke dalam golongan senyawa fitoestrogen dan dapat digunakan sebagai agen antiosteoporosis.

Webtool SwissADME juga dapat mempresentasikan hasil prediksi dari banyak senyawa sehingga lebih mudah dalam tahapan analisisnya dengan menampilkan mode *Boiled EGG* yang menunjukkan letak senyawa yang diperumpamakan dengan bulat telur. Tampilan *Boiled EGG* tersebut dapat menggambarkan secara visual sederhana prediksi kemampuan senyawa dalam terabsorpsi hingga dapat menembus sawar darah otak (Daina *et al.*, 2016).



Gambar 5.5. Letak senyawa dalam *Boiled EGG*

Gambar 5.5 Menunjukkan bahwa senyawa-senyawa yang diprediksi memiliki ikatan agonis terhadap protein 1A52 dan 3OLS masuk ke dalam bulatan telur kuning dan putih. Hal ini menunjukkan bahwa terdapat 5 senyawa pada daerah putih yang

berarti memiliki probabilitas tinggi pada penyerapan saluran pencernaan. Senyawa-senyawa tersebut adalah *N*-(3-Oxododecanoyl)-L-homoserine (molekul 2), *N*-(2-Hydroxyethyl)-N-(2-hydroxyoctadecyl)- β -alanine (molekul 5), 2-Metox-N-[2-(1-piperidinyl sulfonyl) ethyl] ethanesulfonamide (molekul 6), Licocoumarone (molekul 8) dan Lintopride (molekul 9). Senyawa-senyawa yang memiliki probabilitas tinggi pada penyerapan saluran pencernaan, menunjukkan bahwa senyawa tersebut dapat terabsorpsi dengan baik di saluran pencernaan sehingga dapat langsung diedarkan pada target sel khususnya sel tulang (Zoete dan Daina, 2016).

Daerah kuning di *boiled* EGG menunjukkan adanya 6 senyawa, yakni 11-Aminoundecanoic acid (molekul 1), 2,2'-(Tridecylimino)diethanol (molekul 3), Bolandiol (molekul 4), Metaxalone (molekul 7), Nandrolone (molekul 10) dan Cetylamine (molekul 11). Senyawa yang berada di daerah kuning tersebut menunjukkan bahwa senyawa tersebut berarti memiliki probabilitas tinggi pada penetrasi otak, sehingga dapat menembus sawar daerah otak. Senyawa-senyawa ini lebih poten digunakan pada penelitian yang ditargetkan pada sel otak contohnya penelitian antineurodegeneratif (Daina *et al.*, 2017).

5.5. Potensi Agen Antiosteoporosis dari Ekstrak Etil Asetat Daun *C. cainito*

Berdasarkan hasil *molecular docking* yang telah diperoleh dari hasil *metabolite profiling* ekstrak etil asetat daun kenitu terhadap protein 1A52 dan 3OLS, dapat diprediksi bahwa kandungan senyawa ekstrak etil asetat daun *C. cainito* yang memiliki ikatan agonis terhadap protein 1A52 dan 3OLS menunjukkan senyawa tersebut memiliki peran sebagai fitoestrogen, karena mirip dengan 17 β -estradiol ketika berikatan dengan ER. Peran estrogen yang dapat diperankan oleh fitoestrogen ketika mengalami defisiensi estrogen didalam tubuh salah satunya adalah menyeimbangkan proses *remodeling* tulang (Yang *et al.*, 2012). Ketidakseimbangan

proses *remodeling* tulang inilah yang akan menyebabkan terjadinya osteoporosis (Humaryanto, 2017).

Ketidakseimbangan remodeling tulang terjadi karena estrogen reseptor tidak dapat menangkap estrogen yang sudah tidak diproduksi oleh tubuh sehingga akan mengalami penurunan jumlah estrogen reseptor teraktivasi yang ada pada sel tulang (Humaryanto, 2017). Estrogen reseptor yang ada di sel tulang adalah ER α dan β (Humaryanto, 2017). Sehingga ketika seorang wanita mengalami defisiensi estrogen rentan terkena osteoporosis, kejadian ini dapat dicegah dengan fitoestrogen yang memiliki peran mirip dengan estrogen di dalam tubuh (Humaryanto, 2017; *National Osteoporosis Foundation*, 2010).

Estrogen di dalam tubuh, mempunyai efek terhadap keseimbangan fisiologi tulang. Estrogen mempunyai efek terhadap sel osteoklas maupun osteoblas. Pada sel osteoblas estrogen dapat memberikan pengaruh secara langsung maupun tidak langsung. Secara tidak langsung estrogen mempengaruhi proses diferensiasi, aktivasi, maupun apoptosis dari osteoklas. Dalam diferensiasi dan aktivasinya estrogen menekan ekspresi RANK-L, MCSF dari sel stroma osteoblas, dan mencegah terjadinya ikatan kompleks antara RANK-L dan RANK, dengan memproduksi reseptor OPG, yang berkompetisi dengan RANK. Begitu juga secara tidak langsung estrogen menghambat produksi sitokin-sitokin yang merangsang diferensiasi osteoklas seperti: IL-6, IL-1, TNF- α , IL-11 dan IL-7. Terhadap apoptosis sel osteoklas, secara tidak langsung estrogen merangsang osteoblas untuk memproduksi TGF- β , yang selanjutnya TGF- β ini menginduksi sel osteoklas untuk lebih cepat mengalami apoptosis. Sedangkan efek langsung dari estrogen terhadap osteoklas adalah melalui reseptor estrogen pada sel osteoklas, yaitu menekan aktivasi c-Jun,

sehingga mencegah terjadinya diferensiasi sel prekursor osteoklas dan menekan aktivasi sel osteoklas dewasa (Kawiyana, 2009).

Estrogen di dalam sel osteoblas memberikan efek dalam menekan aktivitas osteoklastik yang dapat terjadi secara tidak langsung melalui aksinya pada reseptor osteoblastik. Salah satu sitokin yang diproduksi oleh osteoblas, TGF- β , ditekan produksinya oleh estrogen. TGF- β berperan dalam diferensiasi osteoklas serta kelangsungan hidupnya.¹⁸ Estrogen pun menstimulasi produksi OPG (osteoprotegerin) oleh osteoblas. OPG merupakan reseptor TNF yang penting dalam menghambat diferensiasi dan aktivitas osteoklas. Estrogen juga mengendalikan aktivitas osteoklastik dengan menekan produksi interleukin-6 (IL-6) yang diproduksi osteoblast (Kawiyana, 2009).

Senyawa fitoestrogen di dalam sel tulang, memiliki mekanisme yang sama dengan hormone estrogen. Hal ini dikarenakan fitoestrogen disebut sebagai *estrogen like substance* dan terbagi menjadi dua, yaitu senyawa yang secara struktural mirip dengan 17- β -estradiol atau senyawa yang secara fungsional mirip dengan 17- β -estradiol. Pada pengertian pertama ini, senyawa yang termasuk dalam fitoestrogen dibatasi hanya senyawa yang memiliki struktur mirip 17- β -estradiol saja. Sedangkan pada pengertian yang kedua, fitoestrogen didefinisikan sebagai senyawa yang secara fungsional mirip dengan 17- β -estradiol, maka senyawa yang secara struktural berbeda ataupun sama dengan 17- β -estradiol asalkan mampu menggantikan peran 17- β -estradiol tetap dikatakan sebagai senyawa golongan fitoestrogen (Yang *et al.*, 2012).

Pengertian fitoestrogen di atas menunjukkan bahwa senyawa-senyawa agonis yang terkandung di dalam ekstrak etil asetat daun kenitu dapat diprediksi sebagai agen

antiosteoporosis, karena memenuhi parameter ligan utama, memiliki struktur yang mirip dengan 17- β -estradiol dan mampu menggantikan fungsi 17- β -estradiol. Sehingga diprediksi dapat dijadikan sebagai terapi alternatif dalam membantu mengatasi defisiensi estrogen pada wanita pascamenopause yang mengalami osteoporosis.

5.6. Integrasi Penelitian dengan Kajian Al-Qur'an

Allah SWT menciptakan segala sesuatu di alam semesta tentu memiliki maksud dan tujuan tertentu. Tak ada yang sia-sia pada ciptaan-Nya. Allah SWT menciptakan manusia sebagai makhluk yang berakal agar memikirkan dan mengambil pelajaran atau hikmah dari penciptaan Allah di alam semesta. Dengan berpikir, maka manusia akan mengetahui hikmah dari segala macam jenis ciptaan Allah khususnya di bumi ini. Hal ini tentu akan membawa banyak manfaat bagi kehidupan dunia maupun kehidupan akhirat manusia tersebut. Salah satu ciptaan Allah yang banyak tersebar di muka bumi dengan berjuta jenis yang berbeda-beda ialah tanaman. Manusia hendaknya mencari tahu dan memikirkan manfaat dari penciptaan tanaman ini. Salah satu implementasi dari menggali manfaat tanaman yang Allah ciptakan ialah dengan melakukan penelitian terhadap tanaman tersebut. Hal ini selaras dengan firman Allah pada Al-qur'an surah Qaf ayat 7, yang bunyinya :

وَالْأَرْضَ مَدَدْنَاهَا وَأَلْقَيْنَا فِيهَا رَوَاسِيَ وَأَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ بَهِيجٍ ۝

Artinya : *Dan Kami hamparkan bumi itu dan Kami letakkan padanya gunung-gunung yang kokoh dan Kami tumbuhkan padanya segala macam tanaman yang indah dipandang mata (Qaf :7)*

Menurut tafsir An-Nafahat Al-Makkiyah yang ditulis oleh Syaikh Muhammad bin Shalih asy-Syawwi, makna dari kalimat “*dan Kami tumbuhkan padanya segala macam tanaman yang indah dipandang mata*” pada ayat ini ialah, dari seluruh jenis

tanaman yang membuat orang-orang yang memandangnya senang dan kagum, menjadikan orang yang memandang tanaman-tanaman itu senang dan tanaman tersebut dimanfaatkan manusia untuk berbagai kepentingannya. Salah satu kebermanfaatan yang diambil dari keindahan tanaman yang Allah SWT ciptakan ialah dengan melakukan penelitian terhadapnya.

Setiap manusia dapat mengambil manfaat dari tanaman sesuai dengan bidang ilmu yang digelutinya, di bidang kesehatan sudah seharusnya tanaman dimanfaatkan sebagai alternatif pengobatan yang minim efek samping. Mengingat banyaknya manusia yang diuji dengan penyakit serta obat-obatan sintesis saat ini yang memiliki efek samping yang berbahaya, maka tumbuhan menjadi alternatif sumber pengobatan yang baru.

Pada penelitian ini, ditemukan bahwa daun kenitu diprediksi memiliki manfaat sebagai terapi alternatif untuk penyakit osteoporosis. Penelitian yang dilakukan secara *in silico* ini, menggunakan senyawa-senyawa hasil *metabolite profiling* ekstrak etil asetat yang terdapat di dalam daun kenitu dan selanjutnya ditambahkan bersama protein 1A52 dan 3OLS yang merupakan kode protein reseptor estrogen di dalam tubuh. Senyawa-senyawa yang ditambahkan tersebut, dianalisis hasilnya dengan ligand internal berdasarkan kemiripan parameter yang dihasilkan. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa terdapat 10 senyawa dari ekstrak etil asetat daun *C.cainito* terhadap protein 1A52 yang bersifat agonis (diprediksi memiliki aktivitas antiosteoporosis) dan 8 senyawa dari ekstrak etil asetat daun *C.cainito* terhadap protein 3OLS yang bersifat agonis. Serta terdapat satu kandidat senyawa yang dianggap senyawa unggulan, yakni senyawa bolandiol. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa daun kenitu memiliki efek estrogenik, sehingga dapat dimanfaatkan sebagai pengobatan alternatif untuk penyakit osteoporosis.

Penelitian ini juga bermanfaat bagi wanita pascamenopause, khususnya bagi jamaah haji wanita. Sebagaimana yang disebutkan pada latar belakang tentang meningkatnya kasus kejadian patah tulang jamaah haji yang disebabkan karena riwayat osteoporosis, maka pencegahan melalui pengobatan alternatif dapat dijadikan salah satu solusi untuk meningkatkan kepadatan tulang jamaah haji sebelum berangkat melaksanakan ibadah haji. Hal ini dikarenakan ibadah haji memerlukan aktivitas fisik yang lebih berat dari aktivitas yang biasa dilakukan sehari-hari (Yusri, dkk., 2020). Penelitian ini menjadi salah satu pembuka jalan untuk mengembangkan produk agen osteoporosis dari ekstrak etil asetat daun *Chrysophyllum cainito* yang bermanfaat bagi wanita pascamenopause, khususnya wanita yang akan menjalankan ibadah haji.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa di dalam tanaman yang Allah ciptakan terdapat manfaat yang dapat diambil oleh manusia, dengan kadar atau ukuran tertentu yang sudah Allah takar. Hal ini sesuai dengan firman Allah pada surah Al-Hijr ayat 19 yang bunyinya:

وَالْأَرْضَ مَدَدْنَاهَا وَأَلْقَيْنَا فِيهَا رَوَاسِيَ وَأَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ شَيْءٍ مَّوْزُونٍ

Artinya : Dan Kami telah menghamparkan bumi dan menjadikan padanya gunung-gunung dan Kami tumbuhkan padanya segala sesuatu menurut ukuran (Al-Hijr : 19).

Menurut tafsir Ibnu Katsir, dalam ayat ini Allah SWT menyebutkan penciptaan-Nya terhadap bumi dan bumi itu dipanjangkan, diluaskan serta digelarkan-Nya. Dia menjadikan padanya gunung-gunung yang menjulang tinggi, lembah-lembah, dataran-dataran rendah, dan padang-padang sahara. Dia juga menumbuhkan tanam-tanaman dan berbagai macam buah yang beraneka ragam. Ibnu Abbas mengatakan sehubungan dengan firman-Nya: *segala sesuatu menurut*

ukuran. (Al-Hijr: 19) Yakni menurut ukurannya yang telah dimaklumi. Hal yang sama telah dikatakan oleh Sa'id ibnu Jubair, Ikrimah, Abu Malik, Mujahid, Al-Hakam ibnu Uyaynah, Al-Hasan ibnu Muhammad, Abu Saleh, dan Qatadah. Di antara mereka ada yang mengatakan bahwa makna ayat ini ialah, "Segala sesuatu menurut ukurannya yang pantas." Ibnu Zaid mengatakan, makna ayat ialah "segala sesuatu menurut kadar dan ukurannya yang sesuai".

Ayat di atas memiliki integrasi yang selaras dengan hasil penelitian, di mana dari 27 senyawa hasil *metabolit profiling* ekstrak etil asetat daun kenitu yang ditambatkan dengan protein 1A52 dan 3OLS, diperoleh jumlah senyawa agonis yang berbeda-beda. Di mana, terdapat 10 senyawa yang agonis pada protein 1A52 dan 8 senyawa yang agonis terhadap protein 3OLS. Hal ini dikarenakan adanya perbedaan kandungan di dalam senyawa-senyawa tersebut. Senyawa yang agonis juga memiliki potensi yang berbeda-beda dengan senyawa agonis lainnya, hal ini dikarenakan adanya perbedaan jumlah asam amino dan gugus farmakofor yang terdapat di dalam senyawa tersebut.

Perbedaan jumlah dan kadar senyawa di dalam tumbuhan, dapat menghasilkan aktivitas yang berbeda-beda. Senyawa yang terkandung di dalam tumbuhan, juga memiliki potensi yang berbeda dalam memberikan aktivitas farmakologi. Demikian Allah menciptakan sesuatu dengan ukuran dan kadar yang tertentu, begitupula halnya dengan senyawa fitoestrogen di dalam daun *C.cainito*. Allah SWT menciptakan senyawa estrogen di dalamnya dengan ukuran dan kadar yang berbeda dengan tumbuhan lainnya, sehingga memiliki potensi estrogenik yang berbeda-beda. Tugas kita sebagai manusia ialah senantiasa berikhtiar dengan akal pikiran untuk menggali lebih jauh manfaat dari tanaman yang Allah ciptakan, serta bertambah ketaqwaan dan

keimanan di dalam hati melihat kesempurnaan ciptaan-Nya. Maha benar Allah dengan segala firman-Nya.

BAB VI

PENUTUP

6.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa :

1. Terdapat 10 senyawa agonis 17- β -estradiol pada ekstrak etil asetat daun *C.cainito* terhadap protein 1A52 yang diprediksi memiliki aktivitas antiosteoporosis yaitu senyawa *11-Aminoundecanoic acid*, *N-(3-Oxododecanoyl)-L-homoserine*, *2,2'-(Tridecylimino)diethanol*, *Bolandioli*, *N-(2-Hydroxyethyl)-N-(2-hydroxyoctadecyl)- β -alanine*, *2-Methoxy-N-[2-(1-piperidinylsulfonyl)ethyl]ethanesulfonamide*, *Metaxalone*, *Licoumarone*, *Lintopride* dan *Nandrolone*.
2. Terdapat 8 senyawa agonis 17- β -estradiol pada ekstrak etil asetat daun *C.cainito* terhadap protein 3OLS yang diprediksi memiliki aktivitas antiosteoporosis yaitu senyawa *11-Aminoundecanoic acid*, *2,2'-(Tridecylimino)diethanol*, *Cetylamine*, *N-(2-Hydroxyethyl)-N-(2-hydroxyoctadecyl)- β -alanine*, *2-Methoxy-N-[2-(1-piperidinylsulfonyl)ethyl]ethanesulfonamide*, *Metaxalone*, *Nandrolone* dan *Bolandioli*.

6.2 Saran

Peneliti menyarankan agar dilakukan uji *in vitro* atau uji lebih lanjut terhadap senyawa-senyawa yang agonis, khususnya senyawa yang dianggap memiliki potensi antiosteoporosis paling besar untuk membuktikan kebenaran prediksi aktivitas antiosteoporosis ekstrak etil asetat kenitu.

DAFTAR PUSTAKA

- Accelrys Enterprise Platform. 2005. *Introduction to the Discovery Studio Visualizer*. San Diego, California, U. S. A: Accelrys Software Inc.
- Akbar, H.R. 2010. Isolasi dan Identifikasi Golongan Flavonoid Daun Dandang Gendis (*Clinacanthus Nutans*) Berpotensi Sebagai Antioksidan [*Skripsi*]. Bogor: IPB.
- Al-Imam Abul Fida Isma'il Ibnu Katsir ad-Dimasyqi, 2002. *Terjemah Tafsir Ibnu Katsir Juz 15*, Bogor: Pustaka Imam Syafi'i.
- Arwansyah, A; Ambarsari, L. dan Sumaryada, T. I. 2014. Simulasi *Docking* Senyawa Kurkumin dan Analognya Sebagai Inhibitor Reseptor Androgen pada Kanker Prostat. *Current. Biochem.* 1 (1): 11-19.
- Astuti, indrayani. 29 Juli 2019. KKIHK Mekah Laporkan Banyak Jemaah Alami Kasus Patah Tulang. *Media Indonesia*. Halaman 1.
- Attardi B. J., Page S. T., Hild S. A, Coss C. C., Matsumoto A. M. 2010. Mechanism of action of bolandiol (19-nortestosterone-3 β ,17 β -diol), a unique anabolic steroid with androgenic, estrogenic, and progestational activities. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*. 118 (3): 151–61.
- Bairy, L., Adiga, S., Bhat, P., Bhat, R., 2009. Prevalence of menopausal symptoms and quality of life after menopause in women from South India. *Australian and New Zealand Journal of Obstetrics and Gynaecology*. **49**: 106–109.
- Chagas, C.M., Moss, S. and Alisaraiea, L., 2018. Drug Metabolites and Their Effects on The Development of Adverse Reactions: Revisiting Lipinski's Rule of Five. *International Journal of Pharmaceutics*. Volume 549: pp.133– 149
- Chen, D., Oezguen, N., Urvil, P., Ferguseon, C., Dan, S.M and Savidge, T.C., Regulation of Protein-ligand binding affinity by hydrogen bond pairing. *Science Advances*. Volume 2 (3).
- Clarke B, 2008. Normal Bone Anatomy and Physiology. *Clin J Am Soc Nephrol*. No3.
- Cousins, K. 2011. Computer Review of ChemDraw Ultra 12.0. *Journal of the American Chemical Society*. Volume 133: 8388
- Crockett, R.; P. Le dan Y. Vodovotz. 2011. Effects of Soy Protein Isolate and Egg White Solids on The Physicochemical Properties of Gluten Free Bread. *Food Chemistry* No 129 : 84-91.
- Daina, A., Michielin, O. and Zoete, V., 2017. SwissADME: A Free Web Tool to Evaluate Pharmacokinetics, Drug-Likeness and Medicinal Chemistry Friendliness of Small Molecules. *Scientific Reports*. Volume 7: p.42717.

- Ekins, S;Mestres, J dan Testa, B. 2007. *In silico* Pharmacology for Drug Discovery : methods for virtual ligand screening and profiling *British Journal of Pharmacology*. 152, 9–20
- Gartner, L. P., dan Hiatt, J. L., 2012, *Atlas Berwarna Histologi, Edisi ke-5*, Tangerang Selatan: Binarupa Aksara.
- Ghatol, SP., Verma, S., Agarwal, K., and Sharon, A. 2010. Pharmacophore distance mapping and docking study of some benzimidazole analogs as A2A receptor antagonists. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Drug Research*. Volume 2. Nomor 1. pp.71-77.
- Gheita, H. Epidemiology an awarness of osteoporosis: a viewpoint from the middle east and north Africa. *International Journal Clin Rheumatol*. 13 (3)
- Hanwell, M.D *et al*. 2012. Avogadro: an advanced semantic chemical editor, visualization, and analysis platform. *Journal of Cheminformatics*. Volume 4, Nomor 17: pp.1-17.
- Harish B.M., Devaraju K.S., Gopi A., Saraswathi R., Anushree., Babu R.L., and Sharma S.C. 2013. In silico binding affinity study of calcineurin inhibitors to calcineurin and its close associates. *Indian Journal of Biotechnology*. Volume 12. pp.213-217.
- Humaryanto, 2017. Deteksi Dini Osteoporosis Pasca Menopause. *JMJ*. Volume 5, Nomor 2.
- Jiang, J *et al*. 2018. Isomeric flflavonoid aglycones derived from Epimedii Folium exerted difffferent intensities in anti-osteoporosis through OPG/RANKL protein Targets. *International Immunopharmacology* Vol 62.
- Joshi dan Nisha, 2019. An Overview on Common Organic Solvents and Their Toxicity. *Journal of Pharmaceutical Research International*. Volume 3. No. 28
- Kastritis PL, Bonvin AMJJ. 2012. On the binding affinity of macromolecular interactions: daring to ask why proteins interact. *Journal of the Royal Society*. 10(20120835): 1-27.
- Kawiyana, 2009.Osteoporosis, Patogenesis dan Penanganan dan Terkini. *Jurnal Penyakit Dalam*, Volume 10 Nomor 2
- Kelder, J., Grootenhuis, P.D., Bayada, D.M., Delbressine, L.P. and Ploemen, J.P., 1999. Polar Molecular Surface As a Dominating Determinant for Oral Absorption and Brain Penetration of Drugs. *Pharmaceutical Research*. Volume 16, Nomor 10: pp.1514-151
- Kemenkes RI. 2020. *Profil Kesehatan Indonesia Tahun 2019*. Jakarta : Kementrian Kesehatan RI
- Kesuma, D; Siswandono; Purwanto, B.T dan Hardjono, S. 2018. Uji *in silico* Aktivitas stitotoksik dan toksisitas senyawa turunan N-(Benzoil)-N'-Feniltiourea sebagai calon obat antikanker. *Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research*. Volume 1

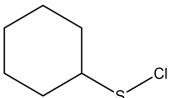
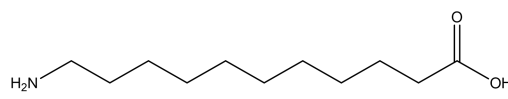
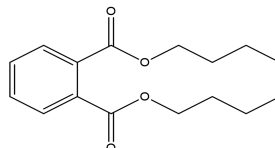
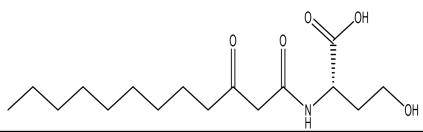
- Koffi, N.; Amoikon, K. E.; Tiebre, M. S.; Kadja, B dan Zirihi, G. N. 2009. Effect of Aqueous Extract of *Chrysophyllum cainito* Leaves on The Glycaemia of Diabetic Rabbits. *African Journal Pharmacy and Pharmacology*. Volume 3: 501-506
- Lipinski, CA., Lombardo, F., Dominy, BW., Feeney, PJ. 2001, Experimental and Computational Approaches to Estimate Solubility and Permeability in Drug Discovery and Development Settings, *Adv. Drug Deliv. Rev.* Volume 46, Nomor 1–3: 3–26
- Ma'arif, B ; Agil, M., dan Laswati, H. 2016. Analisis Fitokimia Ekstrak N-Heksana dan Fraksi Daun *Marsilea crenata* Presl. dengan GC-MS. *Trad. Med. J.* Vol. 21(2), P 77-85.
- Ma'arif, B dan Agnis 2019. Activity of 96% Ethanol Esxtract ofn *Chrophyllum cainito* L. In Increasing Vertebrae Trabecular Osteoblast Cel Number in Male Mice. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. Vol 12, Issue 1
- Ma'arif, B.; Agil, M., dan Laswati, H. 2018. Alkaline Phosphatase Activity of *Marsilea crenata* Presl. Extract and Fractions as Marker of MC3T3-E1 Osteoblast Cell Differentiation. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. Vol 8 (3).
- Ma'arif B, Agnis A, Roihatul M, Weka Sidha B, Reyhan A, Rukiana. 2019. Profil Metabolit Berbagai Ekstrak Daun *Chrysophyllum Cainito* L. Menggunakan UPLC-QTOF-MS/MS. *Jurnal Tumbuhan Obat Indonesia*. Volume 12, Nomor 01.
- Mario, L; Chiechi dan Micheli, L. 2005. Utility of Dietary Phytoestrogens in Preventing Postmenopausal Osteoporosis. *Current Topics in Nutraceutical Research*. Vol 3, No 1.
- Martin, Y.C., 2005. A bioavailability score. *Journal of Medicinal Chemistry*. Volume 48, Nomor 9: pp.3164-3170.
- Martínez, F.D.P' Arciniega, M dan Franco, J.L.M. 2018. Molecular docking: current advances and challenges. *TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, 21(Supl. 1): 1-23
- Mohammad, N.V, Soelaiman, I.N, Chin, K.Y. 2016. A concise review of testosterone and bone health. *Clinical Interventions in Aging*. Vol 11. 1317–1324.
- Muchtaridi, M., Dermawan, D. and Yusuf, M., 2018. Molecular docking, 3D Structure-Based Pharmacophore Modeling, and ADME Prediction of Alpha Mangostin and Its Derivatives Against Estrogen Receptor Alpha. *Journal of Young Pharmacists*. Volume 10, Nomor 3.
- Muhammad bin Shalih asy-Syawi, *Tafsir an-Nafahat al-Makkiyyah*. Bandung : Darul Minhaj.
- Mustofa, 2018. Aktivitas Ekstrak etil asetat daun kenitu (*Chrysophyllum cainito*) terhadap peningkatan kepadatan tulang trabekular mencit betina yang diinduksi deksametason [*Skripsi*]. Malang : Program studi Farmasi UIN Maualana Malik Ibrahim Malang

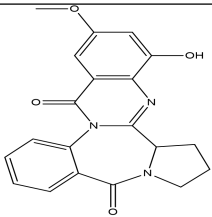
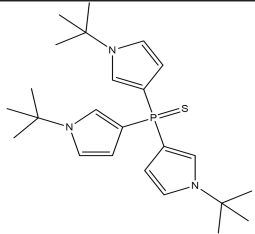
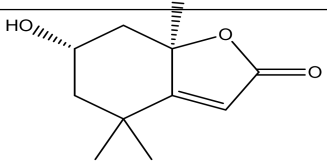
- Muttaqin, F.Z, Pratama, M.F, Kurniawan,F. 2019. Molecular docking and molecular dynamic studies of stilbene derivate compounds as sirtuin-3 (SIRT3) histone deacetylase inhibitor on melanoma skin cancer and their toxicities prediction. *Journal of Pharmacopolium*, Volume 2, No. 2, Agustus 2019, 112-121
- Ningsih, I.Y;Zulaikhaha , S; Hidayata, M.A dan Kuswandi, B. 2016. Antioxidant Activity of Various Kenitu (*Chrysophyllum cainito* L.) Leaves Extracts from Jember, Indonesia. *Agriculture and Agricultural Science Procedia* 9.
- Noviardi, H., dan Fachrurrazie. 2015. Potensi Senyawa Bullatalisin sebagai Inhibitor Protein Leukotrien A4 Hidrolase pada Kanker Kolon secara In Silico. *Fitofarmaka*. Volume 5. Nomor 2.
- Onkara, P; Kumar, A. S;Kanakaraju, B; Prasanna, B; Pydisetty, Y., Chandramoul; G. V. P. 2013. Molecular Docking Studies, Synthesis and Anti-Bacterial Properties of New Mannich Bases. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, 4(2): 263 – 270.
- Orwa, C; Mutua A;Kindt, R.;Jamnadass, R., dan Simons, A. 2009. *Agroforestry Database: A Tree Reference and Selection Guide Version 4.0.1* [Online]. <http://www.worldagroforestry.org/af/treedb/>.
- Pearce, Evelyn C. 2006. *Anatomi dan Fisiologis Untuk Para Medis, Cetakan kedua puluh Sembilan*. Jakarta: PT. Gramedia Pustaka Utama.
- Permana, Hikmat. 2016. *Patogenesis dan Metabolisme Osteoporosis pada Manula*. Bandung : FK Universitas Padjajaran
- Qing, X., Lee, X.Y., Raeymaeker, D.J., Tame, J.R., 2014. Pharmacophore modeling : advances , limitations and current utility in drug discovery. *Journal of Receptor, Ligand and Channel Research*.
- Rachmania, R.A., Hariyanti., Zikriah, R., Soultan, A. 2018. Studi In Silico Senyawa Alkaloid Herba Bakung Putih (*Crinum asiaticum* L.) pada Penghambatan Enzim Siklooksigenase (COX). *Jurnal Kimia VALENSI: Jurnal Penelitian dan Pengembangan Ilmu Kimia*. Volume 4, Nomor 2.
- Sandeep, G; Nagasree, K. P;Hanisha, M., dan Kumar, K. 2011. Audocker LE: a GUIDE for virtual screnning with autodock vina. *BMC Research Notes*. 445, pp.1-4
- Schneider, H.P.G dan Birkhäuser. 2017. Quality of life in climacteric women. *Climacteric* (3).
- Shailajan, dan Deepti, 2014. Pharmacognostic and Phytochemical Evaluation of *Chrysophyllum cainito* Linn. Leaves. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*. No 17.
- Sihombing; Iknes; S.W, Sonny dan J. R. Kalangi. 2012. Peran estrogen pada remodeling tulang. *Jurnal Biomedik*, Volume 4, Nomor 3,hlm. S18-28
- Siswandono dan Soekardjo, B. 1995. *Kimia Medisinal*. Surabaya: University of Airlangga Press
- Studzińska, K.M Kryś-Noszczyk dan G. Jakiel. 2014. Epidemiology of the symptoms of menopause – an intercontinental review. *Prz Menopauzalny* Vol 13. No 3

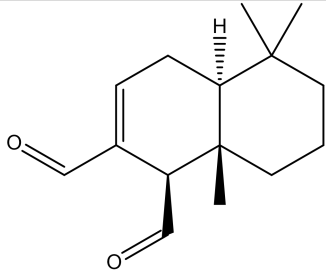
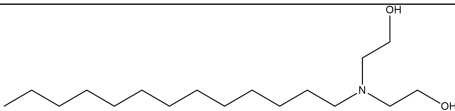
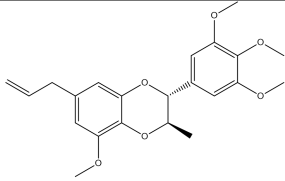

- Troott, O dan Olson, A. J. 2009. Software news and update autodock vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization and multithreading. *Journal of Computational Chemistry*. Volume 31, Nomor 2: pp.455-461
- United States Department of Agriculture. 2004. *Chrysophyllum cainito* L. (<http://www.plants.usda.gov/core/profile?symbol=CHCA10>) National Plant Data Center. Baton Rouge. LA 70874-4490 USA
- Villa, A; Vegeto, E ; Poletti, A dan Maggii, A. 2016. Estrogen , Neuroinflammation and Neurodegeneration. *Endocrine Society*.
- Villiers, T. J. 2009. Bone health and osteoporosis in postmenopausal women. Elsevier: *Best Practice & Research Clinical Obstetrics and Gynaecology*. 23, 73-85.
- Widiyati, E. 2006. Penentuan Adanya Senyawa Triterpenoid dan Uji Aktivitas Biologi pada Beberapa Spesies Tanaman Obat Tradisional Masyarakat Pedesaan Bengkulu. *Jurnal Gradien*. Volume 2.
- Witanto, S., Ratnawati, DE., dan Anam, S. 2019. Pengelompokan Fungsi Aktif Senyawa Data SMILES (Simplified Molecular Input Line Entry System) Menggunakan Metode K-Means Dengan Inisialisasi Pusat Kluster Menggunakan Metode Heuristic O (N LogN). *Jurnal Pengembangan Teknologi Informasi dan Ilmu Komputer*. Volume 3. Nomor 1. Hlm 702- 707.
- Yang, T-S *et al.* 2012. Effects of standardized phytoestrogen on Taiwanese menopausal women. Elsevier : *Taiwanese Journal of Obstetrics & Gynecology*. Vol 51. Page 229-235.
- Yusri, Zulkarnain, dan Sitorus RJ. 2020. Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Kebugaran Jasmani Calon Jemaah Haji Kota Palembang Tahun 2019. *Jurnal Epidemiologi Kesehatan Komunitas*. Volume 5, Nomor 1.
- Zulaikhah, S. 2015. Uji Aktivitas Antioksidan, Polifenol, dan Flavonoid Ekstrak Air, Aseton, Etanol Beberapa Varian Daun Kenitu (*Chrysophyllum cainito*L.) dari Daerah Jember [*Tesis*]. Jember: Universitas Jember.


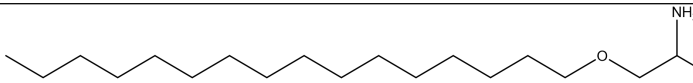
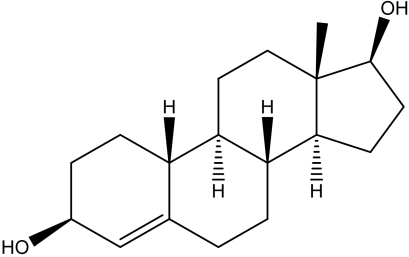
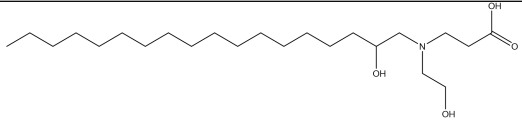
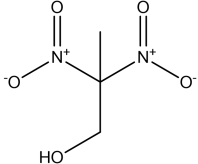
LAMPIRAN-LAMPIRAN

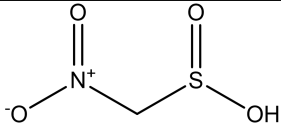
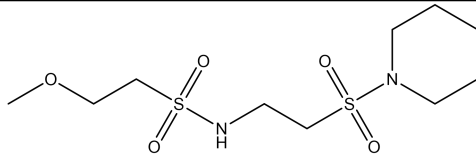
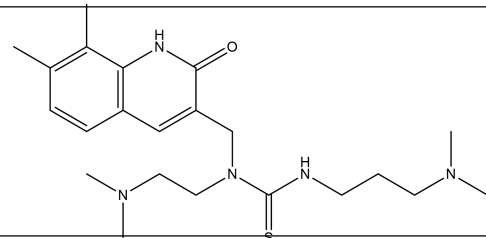
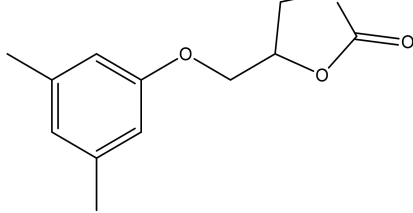
Lampiran 1. Tabel Interpretasi Hasil Kandungan Senyawa Ekstrak Etil Asetat Daun *Chrysophyllum cainito* L. dengan UPLC Qtof Ms/Ms

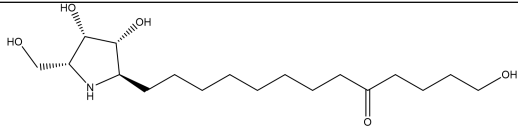
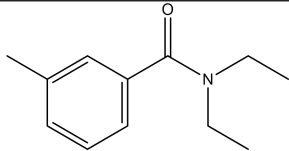
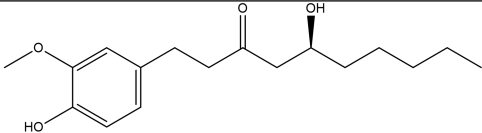
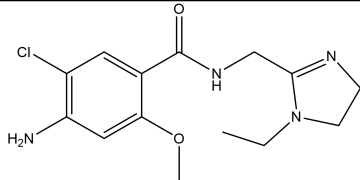
No	Rumus Molekul	Nama Senyawa	Golongan	Struktur dan Aktivitas
1.	C ₆ H ₁₁ SCl	(Chlorosulfa nyl)cyclohex ane	Alkana	
2.	C ₁₁ H ₂₃ NO ₂	11-Aminoun decanoic acid	Asam amino	
3.	C ₁₆ H ₂₂ O ₄	Dibutyl phthalate	Ester	 <p>Antibakteri (Khatiwora 2012), glikosidase inhibitor (Lee 2000), estrogenik (Harris 1997)</p>
4.	C ₁₆ H ₂₉ NO ₅	N-(3-Oxodo decanoyl)-L- homoserine	Asam amino	

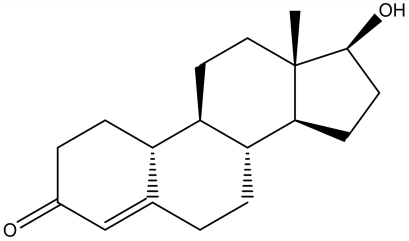
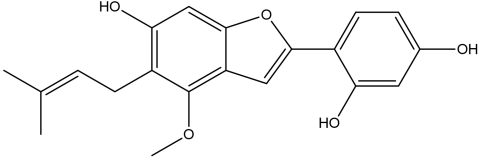
No	Rumus Molekul	Nama Senyawa	Golongan	Struktur dan Aktivitas
5.	$C_{20}H_{17}N_3O$ 4	Circumdatin E	Alkaloid quinazolin	
6.	$C_{24}H_{36}N_3P$ S	3,3',3''-Phosphorothioyltris[1-(2-methyl-2-propenyl)-1H-pyrrole]	Alkena	
7.	$C_{11}H_{16}O_3$	Loliolide	Monoterpenoid	 <p>Antioksidan (Yang, 2011), antipiretik, anti-inflamasi, vasodilator (Grabarczyk, 2015)</p>

No	Rumus Molekul	Nama Senyawa	Golongan	Struktur dan Aktivitas
8.	$C_{15}H_{22}O_2$	Polygodial	Sesquiterpen	 <p><i>Anti-leishmanial, anti-trypanosomal</i> (Corrêa, 2011), dan anti inflamasi (Barrosa, 2016)</p>
9.	$C_{17}H_{37}NO_2$	2,2'-(Tridecylimino)diethanol	Alkohol	
10.	$C_{22}H_{26}O_6$	Eusiderin	Lignan	 <p>Antijamur (Muhaimin, 2006).</p>
11.	$C_{17}H_{26}O_5$	Portentol	Poliketida	 <p>Anti kanker (Schrockender, 2012).</p>

No	Rumus Molekul	Nama Senyawa	Golongan	Struktur dan Aktivitas
12.	$C_{15}H_{33}N$	Cetylamine	Amina	 <p>Anti bakteri, ajuvan untuk difteri, tetanus toxoid, dan influenza (Attwood 2012)</p>
13.	$C_{19}H_{41}NO_2$	2-Amino-3-(hexadecyloxy)-1-propanol	Amina	
14.	$C_{18}H_{28}O_2$	Bolandiol	Steroid	 <p>Estrogenik , Androgenik, Progestenik (Attardi, 2010)</p>
15.	$C_{23}H_{47}NO_4$	N-(2-Hydroxyethyl)-N-(2-hydroxyoctadecyl)-β-alanine	Asam amino	
16.	$C_{17}H_{37}NO_2$	2,2-Dinitro-1-propanol	Alkohol	

No	Rumus Molekul	Nama Senyawa	Golongan	Struktur dan Aktivitas
17.	$\text{CH}_3\text{NO}_4\text{S}$	Nitromethanesulfinic Acid	Asam organik	
18.	$\text{C}_{10}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_5\text{S}_2$	2-Methoxy-N-[2-(1-piperidinylsulfonyl)ethyl]ethanesulfonamide	Amida	
19.	$\text{C}_{22}\text{H}_{35}\text{N}_5\text{OS}$	1-[2-(Dimethylamino)ethyl]-3-[3-(dimethylamino)propyl]-1-[(7,8-dimethyl-2-oxo-1,2-dihydro-3-quinoliny)methyl]thiourea	Amina	
20.	$\text{C}_{12}\text{H}_{15}\text{NO}_3$	Metaxalone	Keton	 <p>Relaksan otot (Trivedi, 2012)</p>

No	Rumus Molekul	Nama Senyawa	Golongan	Struktur dan Aktivitas
21.	$C_{18}H_{35}NO_5$	Broussonetine B	Alkaloid pirolidin	 <p>Antidiabetes (Rahman,2003)</p>
22.	$C_{12}H_{17}NO$	Diethyltoluamide	Amida	 <p>Pengusir Serangga (Ditzen, 2008).</p>
23.	$C_{17}H_{26}O_4$	Gingerol	Fenol	 <p>Antikanker (Zhang, 2017), anti rheumatoid arthritis (Funk, 2009)</p>
24.	$C_{14}H_{19}N_4O_2Cl$	Lintopride	Alkaloid	 <p>Meningkatkan motilitas esofagus, mencegah mual dan muntah (Delvaux, 1995)</p>

No	Rumus Molekul	Nama Senyawa	Golongan	Struktur dan Aktivitas
25.	$C_{18}H_{26}O_2$	Nandrolone	Steroid	 <p>Androgenik, terapi pengganti testosteron (Pomara, 2015)</p>
26.	$C_{20}H_{20}O_5$	Licocoumarone	Flavonoid	 <p>Antioksidan, antimikroba (Harborne, 1994), Anti asam urat (Lim, 2016)</p>

Lampiran 2. Tabel Hasil Molecular Docking 26 senyawa Hasil *Metabolite profiling* Ekstrak Etil Asetat Daun Kenitu terhadap Protein 1A52

No.	Nama Senyawa	<i>Binding Affinity</i> (kkal/mol)	Rmsd Average (Å)	Interaksi	Asam amino (Jenis Ikatan)	Jarak Farmokofor (Å)
1.	(Chlorosulfanyl)cy clohexane	-4.6	0.000	-	-	-
2.	11-Aminoundecanoic acid	-5.2	2.456	Agonis	His524(Hidrogen);Glu 353(Hidrogen)	10.438
3.	Dibutyl phthalate	-5.5	2.986	-	-	-
4.	N-(3-Oxododecanoyl)-L-homoserine	-3.9	4.356	Agonis	His524(Alkyl);Arg394 (Hidrogen)	10.349
5.	Circumdatin E	-3.6	0.000	-	-	-
6.	3,3',3"-Phosphorothioy ltris[1-(2-methyl-2-prop anyl)-1H-pyrrole]	36.5	0.000	-	-	-
7.	Loliolide	-6.3	3.368	-	-	-
8.	Polygodial	-7.6	0.000	-	His524(Hidrogen)	-

No.	Nama Senyawa	<i>Binding Affinity</i> (kkal/mol)	Rmsd Average (Å)	Interaksi	Asam amino (Jenis Ikatan)	Jarak Farmokofor (Å)
9.	2,2'-(Tridecylimino)diethanol	-5.1	4.579	Agonis	His524(Pi-Sigma);Glu353(Hidrogen)	10.562
10.	Eusiderin	10	0.000	Antagonis	Glu353(Carbon)	-
11.	Portentol	-5.5	0.000	-	-	-
12.	Cetylamine	-5.1	4.198	Antagonis	Glu353(Hidrogen)	-
13.	2-Amino-3-(hexadecyloxy)-1-propanol	-3.6	1.789	Antagonis	Glu353(Hidrogen)	-
14.	Bolandirol	-9.5	1.871	Agonis	His524(Hidrogen);Glu353(Hidrogen)	10.980
15.	N-(2-Hydroxyethyl)-N-(2-hydroxyoctadecyl)-β-alanine	0.5	4.329	Agonis	His524(Alkyl);Glu353(Hidrogen)	9.146
16.	2,2-Dinitro-1-propanol	-4.2	2.176	-	His524(Hidrogen)	-
17.	Nitromethanesulfonic Acid	-3.1	3.570	-		-

No.	Nama Senyawa	<i>Binding Affinity</i> (kkal/mol)	<i>Rmsd Average</i> (Å)	Interaksi	Asam amino (Jenis Ikatan)	Jarak Farmokofor (Å)
18.	2-Methoxy-N-[2-(1-piperidinylsulfonylethyl)ethanesulfonamide	5.2	4.078	Agonis	His524(Alkyl);Glu353(Carbon)	9.389
19.	1-[2-(Dimethylamino)ethyl]-3-[3-(dimethylamino)propyl]-1-[(7,8-dimethyl-2-oxo-1,2-dihydro-3-quinolinyl)methyl]thiourea	-2.9	0.000	-	His524(Pi-Sigma)	-
20.	Metaxalone	-6.2	4.884	Agonis	His524(Alkyl);Arg394(Hidrogen)	10.349
21.	Broussonetine B	-5	2.837	Antagonis	Glu353(Hidrogen);Arg394(Hidrogen)	-
22.	Diethyltoluamide	-3.9	4.817	-	-	-
23.	Gingerol	-6.1	4.102	Antagonis	Glu353(Hidrogen)	-
24.	Lintopride	-6.6	0.000	Agonis	His524(Alkyl);Glu353(Hidrogen)	9.112

No.	Nama Senyawa	<i>Binding Affinity</i> (kkal/mol)	Rmsd Average (Å)	Interaksi	Asam amino (Jenis Ikatan)	Jarak Farmokofor (Å)
25.	Nandrolone	-9.9	0.000	Agonis	His524(Hidrogen);Arg 394(Hidrogen)	10.992
26.	Licocoumarone	5.4	0.000	Agonis	His524(Unfavorable); Glu353(Hidrogen);Ar g394(Hidrogen)	12.989

Lampiran 3. Tabel Hasil Molecular Docking 26 senyawa Hasil *Metabolite profiling* Ekstrak Etil Asetat Daun Kenitu terhadap Protein 3OLS.

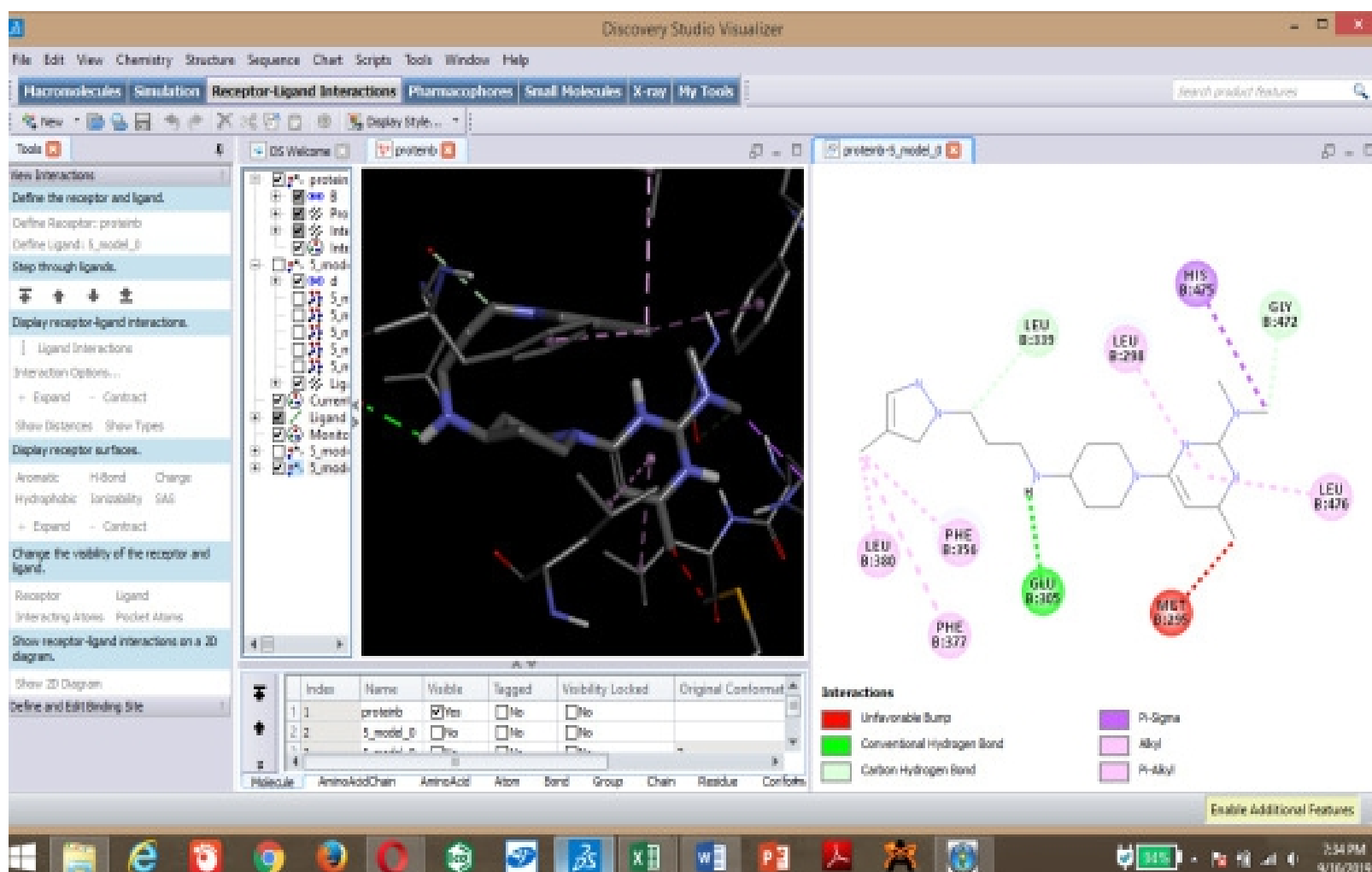
No.	Nama Senyawa	<i>Binding Affinity</i> (kkal/mol)	Rmsd Average (Å)	Interaksi	Asam amino (Jenis Ikatan)	Jarak Farmokofor (Å)
1.	(Chlorosulfanyl)cy clohexane	-4.6	0.000	-	-	-
2.	11-Aminoundecanoic acid	-5.2	2.456	Agonis	His524(Hidrogen);Glu 353(Hidrogen)	10.462
3.	Dibutyl phthalate	-5.5	2.986	-	-	-
4.	N-(3-Oxododecanoyl)-L-homoserine	-3.9	4.356	Agonis	His524(Alkyl);Arg394 (Hidrogen)	-
5.	Circumdatin E	-3.6	0.000	-	-	-
6.	3,3',3"-Phosphorothioy ltris[1-(2-methyl-2-pro panyl)-1H-pyrrole]	36.5	0.000	-	-	-
7.	Loliolide	-6.3	3.368	-	-	-

No.	Nama Senyawa	<i>Binding Affinity</i> (kkal/mol)	Rmsd Average (Å)	Interaksi	Asam amino (Jenis Ikatan)	Jarak Farmokofor (Å)
8.	Polygodial	-7.6	0.000	-	His524(Hidrogen)	-
9.	2,2'-(Tridecylimino)diethanol	-5.1	4.579	Agonis	His524(Pi-Sigma);Glu353(Hidrogen)	10.562
10.	Eusiderin	10	0.000	Antagonis	Glu353(Carbon)	-
11.	Portentol	-5.5	0.000	-	-	-
12.	Cetylamine	-5.1	4.198	Antagonis	Glu353(Hidrogen)	-
13.	2-Amino-3-(hexadecyloxy)-1-propanol	-3.6	1.789	Antagonis	Glu353(Hidrogen)	-
14.	Bolandioli	-9.5	1.871	Agonis	His524(Hidrogen);Glu353(Hidrogen)	10.98
15.	N-(2-Hydroxyethyl)-N-(2-hydroxyoctadecyl)-β-alanine	0.5	4.329	Agonis	His524(Alkyl);Glu353(Hidrogen)	9.146
16.	2,2-Dinitro-1-propanol	-4.2	2.176	-	His524(Hidrogen)	-

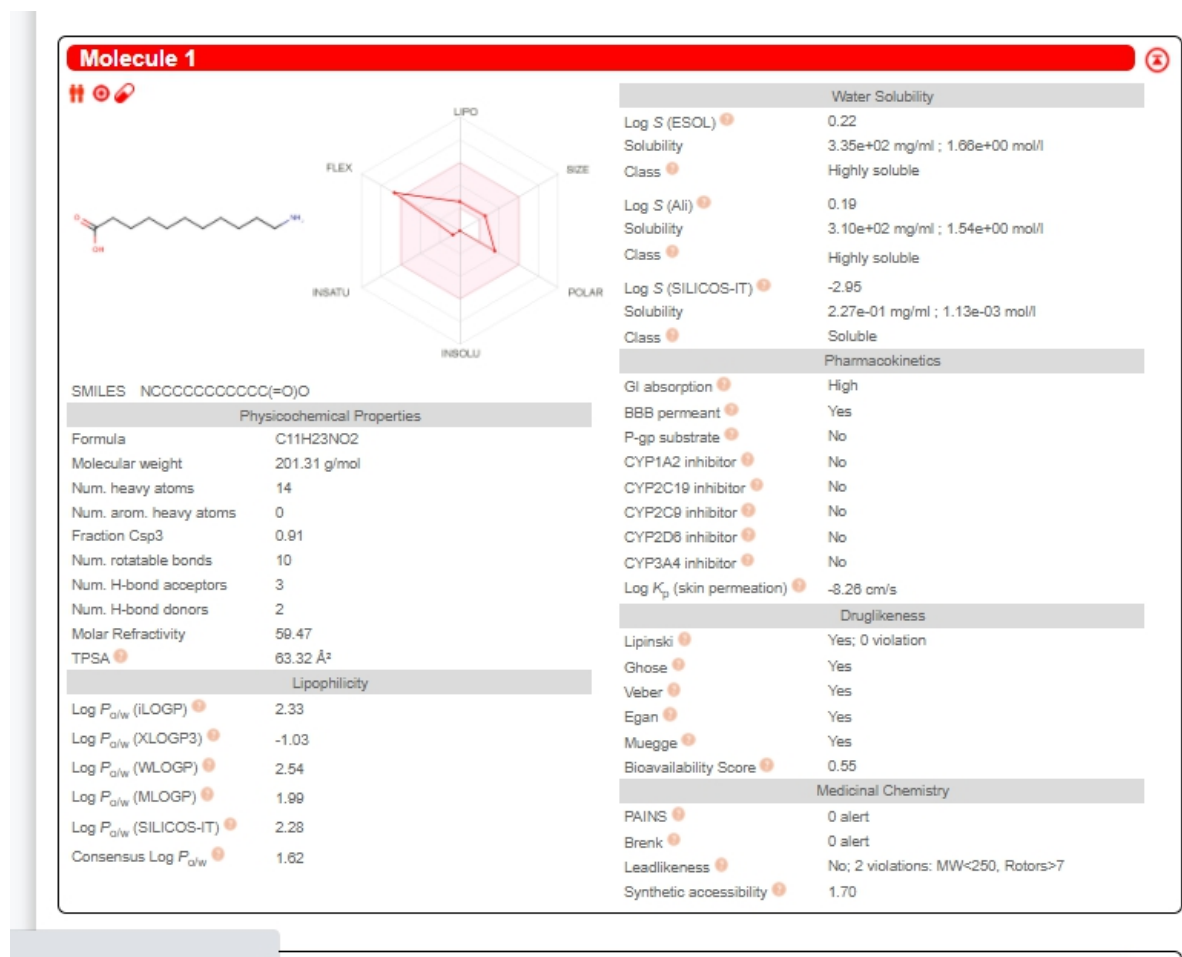
No.	Nama Senyawa	<i>Binding Affinity</i> (kkal/mol)	Rmsd Average (Å)	Interaksi	Asam amino (Jenis Ikatan)	Jarak Farmokofor (Å)
17.	Nitromethanesulfonic Acid	-3.1	3.570	-		-
18.	2-Methoxy-N-[2-(1-piperidinylsulfonyl)ethyl]ethanesulfonamide	5.2	4.078	Agonis	His524(Alkyl);Glu353(Carbon)	9.389
19.	1-[2-(Dimethylamino)ethyl]-3-[3-(dimethylamino)propyl]-1-[(7,8-dimethyl-2-oxo-1,2-dihydro-3-quinoliny)lmethyl]thiourea	-2.9	0.000	-	His524(Pi-Sigma)	-
20.	Metaxalone	-6.2	4.884	Agonis	His524(Alkyl);Arg394(Hidrogen)	10.349
21.	Broussonetine B	-5	2.837	Antagonis	Glu353(Hidrogen);Arg394(Hidrogen)	-
22.	Diethyltoluamide	-3.9	4.817	-	-	-

No.	Nama Senyawa	<i>Binding Affinity</i> (kkal/mol)	Rmsd Average (Å)	Interaksi	Asam amino (Jenis Ikatan)	Jarak Farmokofor (Å)
23.	Gingerol	-6.1	4.102	Antagonis	Glu353(Hidrogen)	-
24.	Lintopride	-6.6	0.000	Agonis	His524(Alkyl);Glu353 (Hidrogen)	9.112
25.	Nandrolone	-9.9	0.000	Agonis	His524(Hidrogen);Arg 394(Hidrogen)	10.992
26	Licocoumarone	5.4	0.000	Agonis	His524(Unfavorable); Glu353(Hidrogen);Ar g394(Hidrogen)	12.989

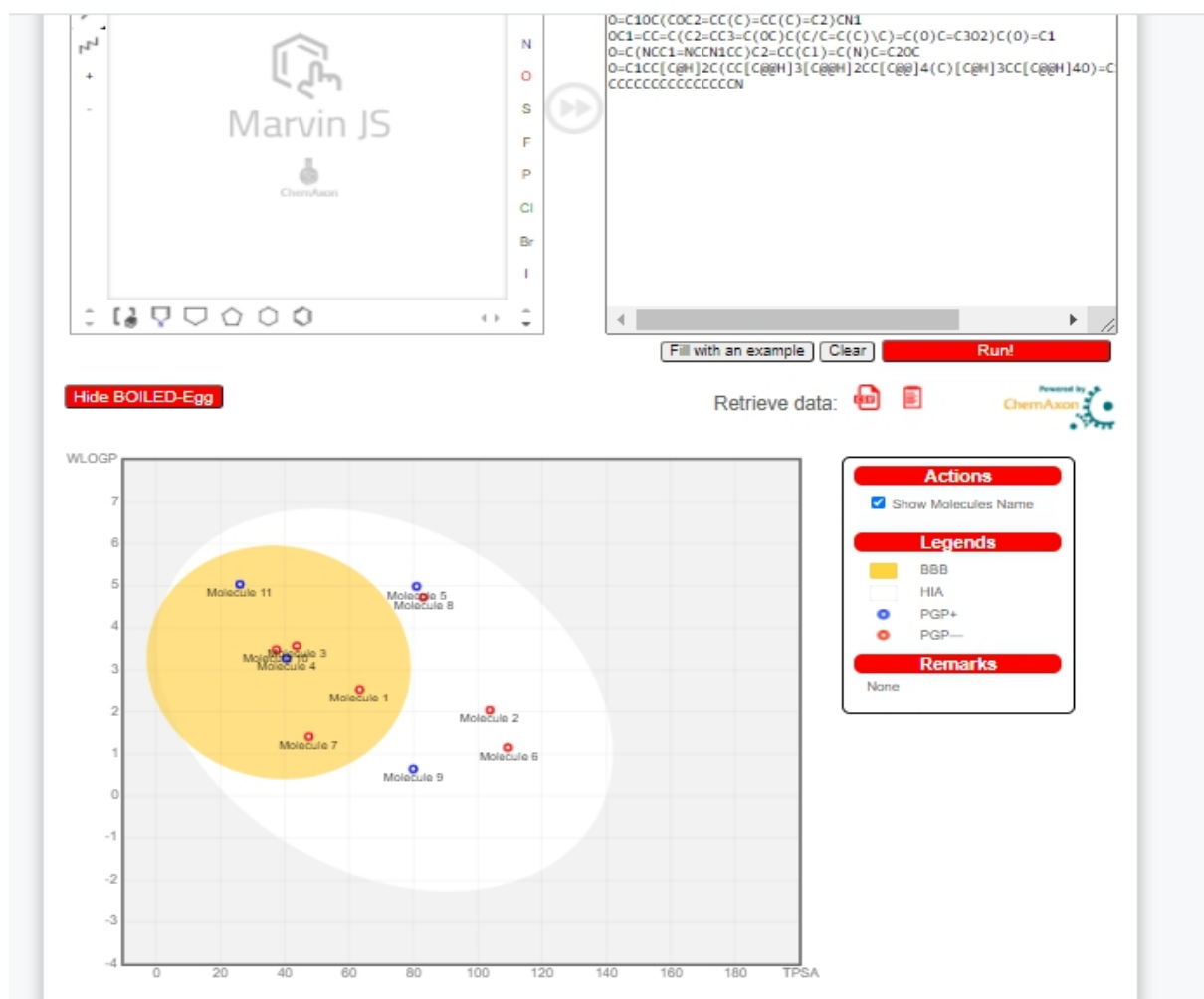
Lampiran 4. Proses Analisis *In silico* Salah Satu Senyawa Hasil *Metabolite Profiling* Ekstrak Etil Asetat Daun Kenitu



Lampiran 5. Hasil Analisis Fisikokimia Salah Satu Senyawa yang Agonis terhadap Protein 1A52 dan 3OLS



Lampiran 6. Proses *skrining Boiled EGG* 11 Senyawa Agonis Ekstrak Etil Asetat Daun Kenitu terhadap Protein 1A52 dan 3OLS





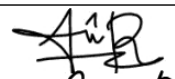
KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU
KESEHATAN PROGRAM STUDI FARMASI
Jl. Ir. Soekarno No.34 Dadaprejo Balu, Telepon (0341) 577033 Faksimile (0341) 577033 Website:
<http://fkik.uin-malang.ac.id> E-mail: fkik@uin-malang.ac.id

LEMBAR PERSETUJUAN PERBAIKAN (REVISI) UJIAN SKRIPSI

Naskah ujian skripsi yang disusun oleh:

Nama : Hilwa Fitri
NIM : 17930019
Judul : Studi *In Silico* Aktivitas Antiosteoporosis Ekstrak Etil Asetat *Chrysophyllum cainito* L. terhadap Protein 1A52 dan 3OLS
Tanggal Ujian Skripsi : 18 Juni 2021

Telah dilakukan perbaikan sesuai dengan saran tim pembimbing dan tim penguji serta dinyatakan telah lulus untuk melanjutkan ke tahap selanjutnya (yudisium).

No	Nama Dosen	Tanggal Revisi	Tanda Tangan
1.	Meilina Ratna D., S.Kep., NS., M.Kep	8 Juli 2021	
2.	apt. Hajar Sugihantoro. M.P.H.	29 Juni 2021	
3.	Fidia Rizkiah Inayatillah, S.ST., M.Keb	29 Juni 2021	
4.	Dr. apt. Burhan Ma'arif Z.A., M.Farm	29 Juni 2021	

Catatan

- Batas waktu maksimum melakukan revisi 2 Minggu. Jika tidak selesai, mahasiswa **TIDAK** dapat mendaftarkan diri untuk mengikuti Yudisium
- Lembar revisi dilampirkan dalam naskah skripsi yang telah dijilid (foto copy), dan aslinya dikumpulkan di Bagian Unit Tugas Akhir Program Studi Farmasi selanjutnya mahasiswa berhak menerima Bukti Lulus Ujian Skripsi

Malang,
Mengetahui,
Koordinator Unit Tugas Akhir



Ria Ramadhani Dwi Atmaja. S.Kep NS .M.Kep.
NIP. 198506 17 200912 2 005

Certificate No: ID08/1219



Kedalaman Spiritual, Keagungan Akhlaq, Ketulusan Ilmu dan Kematangan Profesional